

**SVEUČILIŠTE U SPLITU**

**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**HLAPLJIVI ORGANSKI SPOJEVI VINA  
TRAMINAC**

**DIPLOMSKI RAD**

**IVONA SURJAN**

**Matični broj: 61**

**Split, listopad, 2017.**



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**

**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**DIPLOMSKI STUDIJ KEMIJE**

**ORGANSKA KEMIJA I BIOKEMIJA**

**HLAPLJIVI ORGANSKI SPOJEVI VINA**

**TRAMINAC**

**DIPLOMSKI RAD**

**IVONA SURJAN**

**Matični broj: 61**

**Split, listopad, 2017**

**UNIVERSITY OF SPLIT**

**FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY**

**GRADUATED STUDY OF CHEMISTRY**

**ORGANIC CHEMISTRY AND BIOCHEMISTRX**

**VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS OF WINE**

**TRAMINAC**

**DIPLOMA THESIS**

**IVONA SURJAN**

**Parent number: 61**

**Split, October, 2017.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJA

## DIPLOMSKI RAD

Sveučilište u Splitu  
Kemijско-tehnološki fakultet u Splitu  
Diplomski studij kemije

<b>Znanstveno područje:</b>	Prirodne znanosti
<b>Znanstveno polje:</b>	Kemija
<b>Tema rada</b>	je prihvaćena na 21. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijско-tehnološkog fakulteta
<b>Mentor:</b>	prof. dr. sc. Igor Jerković
<b>Pomoć pri izradi:</b>	doc. dr. sc. Zvonimir Marijanović

### HLAPLJIVI ORGANSKI SPOJEVI VINA TRAMINAC

Ivona Surjan, 61

#### Sažetak :

Traminac je plemenita i stara sorta vinove loze koja se tradicionalno uzgaja na području Iloka. Iločki traminac je vodeće vino među europskim tramincima čemu svjedoče brojne nagrade i priznanja. Grožđe daje poluslatka bijela vina koja se odlikuju karakterističnom profinjenom aromom i bouquetom. Vrlo lako se mogu prepoznati arome latica ruža, breskve, vanilije i mineralnih tonova. Za istraživanje hlapljivih organskih spojeva izabrana su tri različita uzorka vina Traminac, kvalitetno vino berbe 2016, vrhunsko vino ledene berbe 2007 i vrhunsko vino kasne berbe 2012. Za izolaciju hlapljivih organskih spojeva korištena je metoda ekstrakcije tekuće-tekuće s dva različita organska otapala, diklormetan i smjesa otapala pentan:dietil-eter, (1:2 v/v). Dobiveni uzorci analizirani su vezanim sustavom plinska kromatografija-masena spektrometrija, GC-MS. Kvantitativno najzastupljeniji identificirani spoj kod svih uzoraka je ester etil-hidrogen-sukcinat. Osim njega, identificirani su i drugi hlapljivi organski spojevi kao što su 2-feniletanol, dietil-sukcinat, (*E,E*)-heksa-2,4-dienska kiselina i drugi. Odabrana metoda izolacije hlapljivih organskih spojeva pokazala se prikladnom za identifikaciju i kvantifikaciju spojeva koji su zaslužni za sekundarnu aromu vina.

**Ključne riječi:** Traminac, hlapljivi organski spojevi, ekstrakcija tekuće-tekuće, GC-MS

**Rad sadrži:** 60 stranica, 18 slika, 6 tablica, 43 literaturne reference

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Sastav povjerenstva za obranu:**

1. izv.prof.dr.sc. Ani Radonić	predsjednik
2. prof.dr.sc. Igor Jerković	član- mentor
3. izv.prof.dr.sc. Vesna Sokol	član

**Datum obrane:** 05. listopada 2017.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf formatu) obliku pohranjen** u Knjižnici Kemijско-tehnološkog fakulteta, Split, Ruđera Boškovića 33

## BASIC DOCUMENTATION CARD

## DIPLOMA THESIS

University of Split  
Faculty of Chemistry and Technology Split  
Graduate study of chemistry

**Scientific area:** Natural Sciences  
**Scientific field:** Chemistry  
**Thesis subject** was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 21.  
**Mentor:** Igor Jerković, PhD, full professor  
**Technical assistance:** Zvonimir Marijanović, PhD, assistant professor

### VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS OF WINE TRAMINAC

Ivona Surjan, 61

#### Abstract:

Traminac is a noble and old grape variety that is traditionally grown in the Ilok area. Traminac from the Ilok area is the leading wine among the European wines of the same variety, which is attested by many awards and acknowledgments. Grapes produce semi-sweet white wines characterized by a distinctive refined aroma and bouquet. The aroma of rose, peach, vanilla and mineral tones are very easy to recognize. For study of volatile organic compounds, three different samples of Traminac wine were chosen, a quality wine harvest 2016, the top wine of the ice harvest 2007 and the top wine of late harvest 2012. For the isolation of volatile organic compounds, the liquid-liquid extraction method was used with two different organic solvents, dichloromethane and a solvent mixture pentane:diethyl ether, (2:1 v/v). The obtained samples were analyzed by gas chromatography-mass spectroscopy, GC-MS. The most quantitatively identified compound in all samples was ester ethyl hydrogen succinate. In addition, other volatile organic compounds such as 2-phenylethanol, diethyl succinate, (*E,E*)-hexa-2,4-dienoic acid and others were identified. The selected method of isolation of volatile organic compounds has been shown to be suitable for the identification and quantification of the compounds which are attributed to the secondary aroma of wine.

**Keywords:** Traminac, volatile organic compounds, liquid-liquid extraction, GC-MS

**Thesis contains:** 60 pages, 18 figures, 6 tables, 43 references

**Original in:** Croatian

**Defense committee:**

- |                                      |              |
|--------------------------------------|--------------|
| 1. Ani Radonić, PhD, associate prof. | chair person |
| 2. Igor Jerković, PhD, full prof.    | supervisor   |
| 3. Vesna Sokol, PhD, associate prof. | member       |

**Defense date:** October 05, 2017

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited** in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Bošković 33

*Diplomski rad je izrađen u Zavodu za organsku kemiju,  
Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom  
prof. dr. sc. Igora Jerkovića u razdoblju od lipnja do rujna  
2017. godine.*

*Istraživanje je provedeno u sklopu istraživačkog projekta  
Hrvatske zaklade za znanost HRZZ-IP-11-2013-8547  
"Research of Natural Products and Flavours: Chemical  
Fingerprinting and Unlocking the Potential".*

*Zahvaljujem se mentoru prof. dr. sc. Igoru Jerkoviću te doc. dr. sc. Zvonimiru Marijanoviću na pomoći i svim objašnjenjima koje su mi uvelike olakšali uspješnu izradu diplomskog rada.*

*Najveća zahvala ide mojim roditeljima na svom razumijevanju i iznimnoj podršci kako moralnoj tako i materijalnoj, koji su vjerovali u mene i pomogli mi da ostvarim svoje želje i ciljeve.*

*Zahvaljujem se i svom dečku Velki, prijateljima i kolegama koji su mi vrijeme provedeno na fakultetu uljepšali i pomogli da to vrijeme smatram jednim od najljepšim u životu.*



## **ZADATAK DIPLOMSKOG RADA**

- Izolirati hlapljive organske spojeve tri različita uzorka vina Traminac metodom ekstrakcije tekuće-tekuće s dva različita organska otapala, diklormetanom i smjesom otapala, pentan:dietil-eter (1:2 v/v).
- Odrediti aromatični profil hlapljivih organskih spojeva vina Traminac vezanim sustavom plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS).

## SAŽETAK

Traminac je plemenita i stara sorta vinove loze koja se tradicionalno uzgaja na području Iloka. Iločki traminac je vodeće vino među europskim tramincima čemu svjedoče brojne nagrade i priznanja. Grožđe daje poluslatka bijela vina koja se odlikuju karakterističnom profinjenom aromom i bouquetom. Vrlo lako se mogu prepoznati arome latica ruža, breskve, vanilije i mineralnih tonova. Za istraživanje hlapljivih organskih spojeva izabrana su tri različita uzorka vina Traminac, kvalitetno vino berbe 2016, vrhunsko vino ledene berbe 2007 i vrhunsko vino kasne berbe 2012. Za izolaciju hlapljivih organskih spojeva korištena je metoda ekstrakcije tekuće-tekuće s dva različita organska otapala, diklormetan i smjesa otapala pentan:dietil-eter, (1:2 v/v). Dobiveni uzorci analizirani su vezanim sustavom plinska kromatografija-masena spektrometrija, GC-MS. Kvantitativno najzastupljeniji identificirani spoj kod svih uzoraka je ester etil-hidrogen-sukcinat. Osim njega, identificirani su i drugi hlapljivi organski spojevi kao što su 2-feniletanol, dietil-sukcinat, (*E,E*)-heksa-2,4-dienska kiselina i drugi. Odabrana metoda izolacije hlapljivih organskih spojeva pokazala se prikladnom za identifikaciju i kvantifikaciju spojeva koji su zaslužni za sekundarnu aromu vina.

**Ključne riječi:** Traminac, hlapljivi organski spojevi, ekstrakcija tekuće-tekuće, GC-MS

## SUMMARY

Traminac is a noble and old grape variety that is traditionally grown in the Ilok area. Traminac from the Ilok area is the leading wine among the European wines of the same variety, which is attested by many awards and acknowledgments. Grapes produce semi-sweet white wines characterized by a distinctive refined aroma and bouquet. The aroma of rose, peach, vanilla and mineral tones are very easy to recognize. For study of volatile organic compounds, three different samples of Traminac wine were chosen, a quality wine harvest 2016, the top wine of the ice harvest 2007 and the top wine of late harvest 2012. For the isolation of volatile organic compounds, the liquid-liquid extraction method was used with two different organic solvents, dichloromethane and a solvent mixture pentane:diethyl ether, (2:1 v/v). The obtained samples were analyzed by gas chromatography-mass spectroscopy, GC-MS. The most quantitatively identified compound in all samples was ester ethyl hydrogen succinate. In addition, other volatile organic compounds such as 2-phenylethanol, diethyl succinate, (*E,E*)-hexa-2,4-dienoic acid and others were identified. The selected method of isolation of volatile organic compounds has been shown to be suitable for the identification and quantification of the compounds which are attributed to the secondary aroma of wine.

**Keywords:** Traminac, volatile organic compounds, liquid-liquid extraction, GC-MS

# SADRŽAJ

<b>UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>1. OPĆI DIO .....</b>	<b>2</b>
<b>1.1. VINO .....</b>	<b>3</b>
<b>1.2. PODJELA VINA .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3. TRAMINAC .....</b>	<b>6</b>
1.3.1. Traminac crveni .....	6
1.3.2. Traminac mirisavi .....	8
<b>1.4. KEMIJSKI SASTAV VINA .....</b>	<b>9</b>
1.4.1. Voda .....	9
1.4.2. Alkoholi.....	9
1.4.3. Organske kiseline .....	10
1.4.4. Ugljikohidrati .....	12
1.4.5. Esteri .....	13
1.4.6. Aldehidi i ketoni.....	13
1.4.7. Fenolni spojevi .....	14
1.4.8. Spojevi sa dušikom .....	15
1.4.9. Mineralne tvari (pepeo).....	16
1.4.10. Ekstrakt .....	16
<b>1.5. SENZORSKA SVOJSTVA VINA .....</b>	<b>17</b>
1.5.1. Maillardove reakcije.....	19
<b>1.6. AROMA VINA.....</b>	<b>20</b>
1.6.1. Primarne arome vina .....	21
1.6.2. Sekundarne arome vina .....	25
1.6.2.1. Alkoholna fermentacija i njen utjecaj na aromu .....	25
1.6.2.2. Malolaktična fermentacija i njen utjecaj na aromu vina .....	27
1.6.3. Tercijarne arome vina .....	27

<b>1.7. METODE IZOLACIJE HLAPLJIVIH SPOJEVA U VINU .....</b>	<b>29</b>
1.7.1. Ekstrakcija.....	30
1.7.2. Sorpcijske tehnike .....	31
1.7.2.1. Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME) .....	31
1.7.2.2. Sorpcijska ekstrakcija na miješajućem štapiću (SBSE) .....	33
1.7.3. Analiza hlapljivih spojeva.....	34
1.7.3.1. Plinska kromatografija .....	34
1.7.3.2. Vezani sustav plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS) .....	35
<b>2 EKSPERIMENTALNI DIO .....</b>	<b>36</b>
<b>2.1. IZBOR MATERIJALA.....</b>	<b>37</b>
<b>2.2. KEMIJE I APARATURA.....</b>	<b>37</b>
<b>2.3. IZOLACIJA HLAPLJIVIH SPOJEVA .....</b>	<b>38</b>
2.3.1. Ekstrakcija tekuće-tekuće.....	38
<b>2.4. GC-MS ANALIZA HLAPLJIVIH SPOJEVA .....</b>	<b>39</b>
<b>3. REZULTATI.....</b>	<b>41</b>
<b>3.1. GC-MS ANALIZA HLAPLJIVIH SPOJEVA .....</b>	<b>42</b>
<b>4. RASPRAVA .....</b>	<b>49</b>
<b>5. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>55</b>
<b>6. LITERATURA.....</b>	<b>57</b>

# UVOD

Loza i vino prate čovjeka od postanka do danas. Sve blagodati ove „plemenite kapljice“ primijetili su već davno stari Egipćani, Sumerani, Grci i Rimljani, čijom zaslugom ljudi danas diljem svijeta uživaju u vinu. Za neke je vino blago koje treba najbrižnije čuvati i brinuti se o njemu, dok je za druge samo obična trivijalnost. Kakvoća, individualnost i karakter pojedinog vina uvijek su rezultat zajedničkog prožimanja i skladnosti njegove boje, mirisa i okusa. Istinski zaljubljenici u vino reći će da se u njemu isprepliću srdačnost, mudrost, ljubav, poezija, sreća, patriotizam i zaborav. Da nema vina koliko bi pjesama bilo neispjevano, snova nedosanjano, djela nenapisano, a i ljubavi bi puno otišlo u nepovrat.<sup>1</sup>

U Hrvatskoj vinogradarstvo i vinarstvo ima dugotrajnu tradiciju i rasprostranjeno je gotovo u svim dijelovima zemlje, a vinska kultura dio je tradicionalnog načina života. Rijetko koja država kao Hrvatska može se pohvaliti tolikom raznolikošću reljefa, klime, tla i drugih čimbenika koji bitno utječu na uzgoj vinove loze, a time i na samo vino. Hrvatska pripada vinorodnim zemljama Europe, kao mediteranska i kontinentalna zemlja s brojnim autohtonim sortama i jedinstvenim vrhunskim vinima.<sup>2,3</sup>

## **1. OPĆI DIO**

## 1.1. VINO

Vino, prema Zakonu o vinu iz 2003. godine, je poljoprivredni prehrambeni proizvod, dobiven potpunim ili djelomičnim alkoholnim vrenjem masulja ili mošta, od svježeg i za preradu pogodnog grožđa. Pogodnim grožđem za proizvodnju vina podrazumijeva se zdrav, zreo, prezreo, prosušen ili prirodno smrznut plod vinove loze. Sorte vinove loze za proizvodnju vina moraju pripadati vrsti *Vitis vinifera* ili križancima *Vitis vinifera* s drugim vrstama roda *Vitis*.<sup>4</sup>

Rezultat izuzetno složenog kemijskog sastava vina je spoj biokemijskih osobina grožđa i kvasaca, uvjeta u kojima se odvija proces fermentacije i ljudskog utjecaja na cjelokupan proces prerade i fermentacije te kasnije skladištenja samog vina. Na kvalitetu i organoleptička svojstva vina kao i na udio alkohola u vinu bitno utječu karakteristike pojedinog grožđa kao sirovine za proizvodnju vina. Karakteristike grožđa variraju ne samo prema sorti vinove loze koja se uzgaja, već su vrlo bitni i tlo na kojem vinova loza raste, način obrade tla i uzgoja vinove loze, udio šećera u plodu u vrijeme berbe kao i opći klimatski uvjeti na području gdje se vinova loza uzgaja. Iz tih razloga vina se obično označavaju po sorti vinove loze od kojih su dobivena, geografskom porijeklu (apelaciji) i godištu berbe.<sup>5</sup>

## 1.2. PODJELA VINA

Podjela vina može se obaviti na nekoliko načina, prema njegovu sastavu, kvalitetnim osobinama, podrijetlu, vremenu i načinu berbe, sorti, tehnološkom postupku proizvodnje, namjeni i po drugim osnovama, pa stoga i ne iznenađuje činjenica da postoji velik broj međusobno različitih sustava. Prema Zakonu o vinu, NN 96/2003, vina se dijele na:

1) Vina u užem smislu riječi:

- mirna vina,
- pjenušava vina,
- biser vina,



- gazirana vina,

## 2) Specijalna vina:

- desertna vina,
- aromatizirana vina,
- likerska vina.

## 3) Po boji se vina dijele na bijela, ružičasta (rose, opolo) i crna (crvena).

## 4) Po sadržaju neprevrelog šećera vina se dijele:

- mirna vina na: suha, poluslatka i slatka
- pjenušava, biser i gazirana vina na: vrlo suha, suha, polusuha, poluslatka i slatka.

## 5) Po kakvoći:

### STOLNA VINA:

- stolno vino bez oznake zemljopisnog podrijetla
- stolno vino s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom

### KVALITETNA VINA:

- kvalitetno vino s kontroliranim podrijetlom

### VRHUNSKA VINA:

- vrhunsko vino s kontroliranih i ograničenih vinorodnih područja
- vrhunsko vino s kontroliranih i ograničenih specifičnih vinorodnih područja
- predikatna vina s kontroliranim zemljopisnim podrijetlom.

Predikatna vina su vina koja u izuzetnim godinama i prikladnim uvjetima dozrijevanja grožđa na trsu, ovisno o postignutom stupnju zrelosti grožđa te vremenu berbe i prerade, postižu posebnu kakvoću, a moraju biti proizvedena samo od grožđa preporučenih sorti za pojedino vinogorje.

Predikatna vina su:

- vino kasne berbe proizvedeno od grožđa koje je ubrano u stanju prezrelosti i mošta kojega ima najmanje 94° Oechsla
- vino izborne berbe proizvedeno isključivo od posebno izabranog grožđa kojemu mošt sadrži najmanje 105° Oechsla
- vino izborne berbe bobica proizvedeno od izabranih, prezrelih i plemenitom plijesni napadnutih bobica čiji mošt sadrži 127° Oechsla
- vino izborne berbe prosušenih bobica proizvedeno od izabranih prosušenih bobica čiji mošt sadrži 154° Oechsla
- ledeno vino proizvedeno od grožđa koje je ubrano pri temperaturi od najmanje - 7°C i prerađeno u smrznutom stanju, a čiji mošt sadrži najmanje 127° Oechsla.<sup>4</sup>

#### ARHIVSKA VINA

Arhivsko vino je vino koje se u podrumskim uvjetima čuva dulje od njegovog optimalnog zrenja, a najmanje pet godina od dana prerade grožđa u vino, od čega najmanje tri godine u boci.

#### SPECIJALNA VINA

Specijalna vina su vina dobivena posebnim načinom prerade grožđa, mošta ili vina bez dodataka ili s dodatkom određene količine vinskog alkohola, vinskog destilata, šećera, koncentriranog mošta i mirisavih ili drugih dopuštenih tvari biljnog podrijetla.

Specijalna vina su:

- desertno vino
- likersko vino
- aromatizirano vino.

#### PJENUŠAVA VINA

Pjenušava vina su vina koja uz ostale određene sastojke sadrže i povećanu količinu ugljičnog dioksida zbog kojeg se pri otvaranju boce razvija obilna pjena.

U pjenušava vina ubrajaju se prirodno pjenušava i gazirano pjenušava vina.<sup>6</sup>

### 1.3. TRAMINAC

Traminac je plemenita i stara sorta vinove loze. Prvi zapisi o tramincu datiraju još iz 1000. godine. Zbog sličnosti imena, podrijetlo mu se povezuje s gradićem Traminom u južnom Tirolu na sjeveru Italije iz kojeg se proširio po Njemačkoj, Švicarskoj, Francuskoj i drugim zemljama. Mnogi ampelografi istraživali su podrijetlo traminca i na osnovu povijesnih i genskih istraživanja zaključili su kako se traminac „rodio“ negdje između sjeveroistočne Francuske i jugoistočne Njemačke kao prirodni križanac pinota i nepoznate sorte ili dviju starih nepoznatih sorti koje su vjerojatno izumrle. Traminac je vrlo sklon mutacijama stoga i ne čudi da populacija traminca sadrži više varijacija i klonova. Najpoznatiji klonovi kod nas, koji su selekcionirani u Njemačkoj, su Traminac crveni i Traminac mirisavi.<sup>7,8</sup>

Iako se uzgaja u Njemačkoj, Austriji, Italiji, Mađarskoj, Hrvatskoj, Španjolskoj, Slovačkoj i Luksemburgu nigdje nije tako bogat, oštrog i blago kiselkastog okusa te tako ozbiljno shvaćen kao u francuskoj pokrajini Alsace odakle i dolaze najbolja vina. S time se ne bi složili Iločani koji nisu daleko od istine jer su iločki traminci stvarno posebna vina. Posebno se ističu ona koja su kasnije brana pa imaju čvrsto tijelo, ostatak neprevrelog šećera daje im dodatnu punoću, a moćni Dunav kraj kojeg rastu i mineralno tlo osigurava im zadovoljavajuću svježinu. Iločki traminac, taj kralj među vinima, proizvodi se još od 1710. godine. Odlikuje se izuzetno visokom kakvoćom čiju skladnost i eleganciju lako prepoznaju istinski poklonici ovog kultivara.<sup>9,10</sup>

#### 1.3.1. Traminac crveni

Traminac crveni (njem. *Roter traminer*, fr. *Savagnin rose*.) je preporučeni kultivar u svim vinogorjima u regiji Kontinentalna Hrvatska. Traži srednje ili niže položaje te dosta duboko, bogato, pjeskovito tlo i dosta vlage. Zbog ranijeg dozrijevanja, prikladan je i za sjevernije klime dok u južnom podneblju na suhom i mršavom tlu ne uspijeva i zaostaje u rastu.

Rodnost je redovita, ali razmjerno mala, kao i u kod većine kvalitetnih sorti malih grozdova. Srednje je otporan na niske zimske temperature, a otpornost prema gljivičnim bolestima i truleži je vrlo dobra. Redovito nakuplja visoku količinu sladora i ne uvijek zadovoljavajući sadržaj ukupnih kiselina, što ovisi o godini, položaju i stupnju dozrelosti. Vina iz grožđa crvenog traminca su cijenjena u prvom redu zbog profinjene arome i bouquet-a. Boja dobro odnjegovanog traminca je slamnatožuta do zlatnožuta, okus najčešće polusuh do polusladak, rjeđe suh, alkoholnost srednje jaka, a manjak ukupnih kiselina nastoji se izbjeći ranijom berbom. Traminac crveni spada među posebno cijenjena i vrhunska vina. Iz populacije ovog kultivara selekcioniran je traminac mirisavi s nešto naglašenijom aromom.<sup>11, 12, 13</sup>



**Slika 1.** Traminac crveni<sup>14</sup>

### 1.3.2. Traminac mirisavi

Traminac mirisavi (njem. *Gewurztraminer*, fr. *Savagnin aromatique rose*) po mišljenju mnogih ampelografa nije posebna sorta ili varijacija, već stanje dozrelosti traminca crvenog kad bobice uz svjetliju boju razvijaju jači okus. Međutim, vjerojatnije je da se u jednom i drugom slučaju radi o varijacijama jedne sorte, od kojih je jedna tamnijih crvenih bobica i nešto manje aromatična, a s mirisavim je obrnuto. Boja bobica kod oba varira prema stanju dozrelosti. Botaničke i druge značajke iste su kao i kod traminca crvenog. Traminac mirisni ima jasan zaštitni znak koji podsjeća na egzotičnu mješavinu ružinih latica, rahat lukuma, cimeta i tropskog voća. Nakuplja vrlo velike količine šećera i zbog toga je moguće postići visoke koncentracije alkohola u suhim vinima. S druge strane, niska kiselost i visok pH stvaraju probleme i kod traminca mirisnog. Stoga je od presudne važnosti kontinuirano praćenje sazrijevanja i precizno određivanje vremena berbe. Rano branje zadržava kiselinu, ali bez kasnije berbe neće doći do razvijanja karakterističnih osobina koje krasi ovo vino. Traminac mirisni je poluslatko vino, lagano uljaste teksture, intezivnog, bogatog i harmoničnog okusa i mirisa. <sup>7, 11</sup>



Slika 2. Traminac mirisavi <sup>15</sup>

## **1.4. KEMIJSKI SASTAV VINA**

Vino je vrlo kompleksan proizvod. Kemijski gledano, vino je mješavina vode, alkohola, različitih kiselina i njihovih nusproizvoda. Te osnovne tvari tvore stotine spojeva različitih kemijskih struktura i svojstava. Svaka grupa spojeva zaslužna je, u većoj ili manjoj mjeri, u definiranju kakvoće vina, a razlog pozitivnog djelovanja na ljudsko zdravlje leži u fenolnom sastavu. Kemijski sastav vina, uzgoj grožđa, proizvodnja vina, uvjeti dozrijevanja vina i brojni drugi parametri danas su predmet mnogih istraživanja koja doprinose boljem razumijevanju procesa i promjena koje se događaju tijekom dobivanja vina.<sup>16</sup>

### **1.4.1. Voda**

Voda je glavni sastojak vina, čiji se udio mijenja ovisno o udjelu s alkohola. Količina vode u vinu se kreće od 60 do 90% te predstavlja odliku pojedine sorte, a ovisi i o drugim čimbenicima kao što su stupanj zrelosti grožđa i ekološki uvjeti u kojima se grožđe uzgaja. U vinu se vrlo dobro otapaju različiti spojevi, kao što su alkoholi, kiseline i soli te mala količina teških sastojaka, poput ulja, voskova i drugih sličnih komponenti, upravo zbog velikog udjela vode. U grožđu se nalaze puno veće količine teških sastojaka koje u vino ne dopijevaju zbog ograničene topljivosti i tehnologije koje onemogućava pucanje sjemenki u kojima se nalazi ulje.<sup>16</sup>

### **1.4.2. Alkoholi**

U vinu se nalazi veliki broj različitih vrsta alkohola i jedni su od važnijih sastojaka vina, ne samo zbog toga što podižu raspoloženje već zato jer predstavljaju glavnu ulogu u kvaliteti vina. Alkoholi se mogu podijeliti u dvije osnovne skupine: alifatske i aromatske. Alifatski alkoholi se dijele na monovalentne i viševalentne. Najizraženiji monovalentni alkoholi u vinu su etanol (etilni alkohol) i metanol.

Etilni alkohol je drugi vodeći sastojak u vinu, a njegov udio se kreće od 12 do 14%. Najveća količina etanola uglavnom nastaje alkoholnom fermentacijom šećera iz mošta, ali male količine mogu nastati u stanicama grožđa u anaerobnim uvjetima pod utjecajem enzima alkohol dehidrogenaze. Etanol zajedno s kiselinama služi kao dezinfekcijsko sredstvo i omogućava čuvanje vina godinama bez kvarenja. Etanol u velikih količinama je štetan za čovjeka jer utječe na jetru i živčane stanice.<sup>17, 18</sup>

Metanol je prisutan u vinima u vrlo malim količinama od oko 30 do 35 mg/L i nije štetan za zdravlje čovjeka te nema veliki utjecaj na senzorska svojstva vina. Nastaje hidrolizom pektinskih tvari pod utjecajem enzima. U tijeku alkoholnog vrenja pektin se hidrolizira iz polugalakturonske kiseline, kao jezgra pektina i oslobađa se metilni alkohol. Najviše ga ima u crnim, potom u rose, a najmanje u bijelim vinima. Otrovnost metanola je dobro poznata. Nakon uzimanja se brzo oksidira do mravlje kiseline ili do aldehida, a oba spoja su toksična za središnji živčani sustav. Aldehid metanola posebno jer razara optički živac i uzrokuje sljepilo.<sup>18</sup>

Viši alkoholi nastaju radom kvasaca *Saccharomyces cerevisiae* za vrijeme alkoholne fermentacije (dekarboksilacijom) ili iz aminokiselina (deaminacijom). Viši alkoholi u reakciji s kiselinama stvaraju estere vrlo ugodna mirisa i sudjeluju u oblikovanju bouquet vina. Od viših alkohola u vinu su najzastupljeniji izoamilni i izobutilni koji čine 90% ukupne količine viših alkohola, a tu su još amilni, propilni i drugi.

Polioli ili viševalentni alkoholi su alkoholi s više hidroksilnih skupina. Najvažniji od njih je glicerol koji je treći najzastupljeniji spoj u vinima i najvažniji nusprodukt fermentacije. Glicerol je uljasta tekućina, a njegova količina bitno utječe na kakvoću vina. Vina bogata glicerolom su puna i harmonična okusa. Ostali polioli su butandiol, arabitol, sorbitol i manitol.

Feniletanol, tirozol i benzil-alkohol spadaju u aromatske alkohole koji nastaju alkoholnom fermentacijom iz aminokiseline fenilalanina. Najzastupljeniji je feniletanol koji ima miris meda i važan je za bouquet vina.<sup>18, 19</sup>

Alkohol utječe na aromu i okus. Zrelije grožđe ima više prirodnog šećera i samim time sadržavat će i više alkohola. Vina s više alkohola su punija, harmoničnija i gušća, za razliku od vina s manje alkohola koja su blaža, finija i svjetlija. Vrhunsko vino odlikovat će se precizno izbalansiranim sadržajem kiselina, šećera i alkohola.<sup>17</sup>

### **1.4.3. Organske kiseline**

Organske kiseline predstavljaju najvažniju grupu spojeva za okus vina. Kako grožđe sazrijeva, sadržaj šećera se povećava, a sadržaj kiselina se smanjuje. Stoga, za svakog vinara predstavlja izazov točno i precizno odrediti vrijeme berbe kako bi vino u konačnici imalo dobar sadržaj šećera i kiselina. Bez dovoljne količine kiselina suha vina

bila bi slaba, monotona, dosadna, a slatka vina mlitava i podložna kvarenju. Ako vino u sebi ima veliku količinu kiselina onda je gorko i loše pa je vrlo važno znati pravi sadržaj kiselina, ni premalo ni previše. Organske kiseline potječu iz grožđa, odakle preko mošta prelaze u vino, a manji dio nastaje u samom vinu transformacijom nekih sastojaka mošta tijekom alkoholne fermentacije ili kasnije za vrijeme čuvanja vina. Dije se na hlapljive i nehlapljive. Nehlapljive organske kiseline utječu na kiselost vina, a hlapljive su od sekundarnog značaja. Udio kiselina u moštu i vinu je od 5 do 15 g/L. Kako je kiselinski sastav izuzetno važan za senzorska svojstva, ali i za stabilnost vina, dopušteno je dodavanje kiselina, najčešće vinske.<sup>17, 19</sup>

Nehlapljive organske kiseline su: vinska kiselina, jabučna kiselina, mliječna kiselina, limunska kiselina, jantarna kiselina i dr.

Hlapljive organske kiseline su: octena kiselina, mravlja kiselina, maslačna kiselina, valerijanska kiselina i dr.

Najveći udio imaju vinska i jabučna kiselina. Vinska kiselina je ključna i najjača organska kiselina mošta i zbog toga najviše utječe na njegov pH dajući mu kiselost 3-3,5. Jabučna kiselina na početku dozrijevanja ima vrlo visoku koncentraciju koja pri punoj zrelosti dosta opada. Jabučnu kiselinu bobica najviše iskorištava kao organski materijal u respiracijskim procesima. Vina s povećanim sadržajem jabučne kiseline dosta su neharmonična u okusu jer prevladava kiselo-zeljasti okus. U vinu je ova kiselina nepostojana i podliježe pretvorbi u blažu i okusom ugodniju mliječnu kiselinu. Ta pretvorba se zove malolaktično vrenje ili biološko smanjenje kiseline. Mliječna kiselina manjim dijelom nastaje u tijeku alkoholne fermentacije kao sekundarni produkt, a u većoj količini se javlja u pokvarenom vinu uslijed metabolizma mliječno-kiselih bakterija. Limunska kiselina u vinu je manje zastupljena od jabučne i mliječne kiseline. Dio šećera iz grožđa uz pomoć plijesni *Botritis cinerea* pretvara se u limunsku kiselinu, koja iz mošta prelazi u vino. Inhibira djelovanje kvasca, ali ga ne prekida.<sup>18, 19</sup>

Hlapljive kiseline u vinu nastaju u tijeku alkoholnog vrenja, kao sekundarni produkt ili u procesu bolesti (kvarenja) vina. Veći ili manji sadržaj hlapljivih kiselina u vinu ukazuje na biološku nestabilnost vina tj. da se u vinu razvila neka bolest. Količinski sadržaj hlapljivih kiselina uzet je kao jedan od elemenata za provjeru ispravnosti vina u prometu. U skupini ovih kiselina najzastupljenija je octena kiselina.



Pojava octene kiseline u vinu je karakteristična za bolesna vina. Kod nedovoljno sulfitiranih vina, izloženih oksidaciji, uz pomoć octenih bakterija koje razlažu alkohol u octenu kiselinu, stvara se tzv. patološka octena kiselina. Ostalih kiselina kao što su mravlja, propionska, maslačna i valerijanska nalazimo u tragovima u vinu, osim kod onih u kojima je došlo do kvarenja.<sup>19</sup>

#### **1.4.4. Ugljikohidrati**

Ugljikohidrati su osnovni sastojak grožđa i na temelju njih i kiselina određuje se tehnološka vrijednost grožđa. Imaju važnu ulogu u različitim reakcijama tijekom alkoholne fermentacije i starenja vina. Zbog svog hidrolitičkog karaktera, topljivi su u vodi. Sastoje se od malih molekula koje su sposobne sudjelovati u velikom broju kemijskih, biokemijskih i metaboličkih reakcija. Prekursori su organskih kiselina, ali i drugih spojeva kao što su fenoli i aromatske aminokiseline. Glukoza je prekursor limunske, jabučne i jantarne kiseline u aerobnom putu glikolize, a u putu pentoze je prekursor vinske i šikiminske kiseline. Karakteristične arome vina koje nastaju iz hlapljivih spojeva se formiraju iz ugljikohidrata.

U vinu su zastupljeni brojni monosaharidi, disaharidi i polisaharidi. U najvećem udjelu su prisutne heksoze D-glukoza i D-fruktoza. D-glukoza je najčešći monosaharid u prirodi i predstavlja važnu ulogu u biokemiji, to je glavni izvor energije za žive stanice. D-fruktoza se u slobodnom obliku javlja u voću i medu. Oba šećera su glavni šećeri u moštu, ali sazrijevanjem njihov se omjer mijenja. Na početku više je glukoze, ali djelovanjem kvasaca odnos se mijenja u korist fruktoze i to je jedan od indikatora zrelosti. Osim ovih spomenutih šećera, grožđe sadrži i druge šećere, ali u manjim količinama, a to su: D-manoza, D-galaktoza, L-arabinoza, D-riboza. Povećana količina D-galaktoze i L-arabinoze znak je da se radi o pokvarenom vinu.

Disaharida u grožđu ima u tragovima. Najvažniji su saharoza, maltoza, rafinoza i melibioza. Saharoza se uz pomoć kvasaca fermentira te hidrolizom nastaju esencijalni šećeri, fruktoza i glukoza. Saharoza u vinu ne smije biti prisutna jer je dodavanje šećera zakonom zabranjeno, osim kod nekih specijalnih vina (aromatizirana vina). Dodavanje industrijskog šećera (šaptalizacija) dopušteno je jedino u mošt prije vrenja, u zemljama sa hladnijom klimom zbog slabije sinteze šećera. Polisaharidi su jedna od važnijih skupina makromolekula u vinu koja doprinosi povećanju viskoznosti i stabilnosti vina.

Značajno utječu na organoleptička svojstva vina zbog njihove interakcije s polifenolima i aromatičnim spojevima. Najpoznatiji su pektini i škrob.

Udio šećera u grožđu i moštu ovisi o sorti i klimatskim uvjetima. Visokokvalitetne sorte mogu imati 22-28% šećera, a kvalitetne sorte imaju 18-22%. Šećeri reduciraju okus kiselosti, gorčine i trpkosti i tako utječu na aromu vina. Crna vina obično imaju viši postotak šećera nego bijela vina. Duljim stajanjem vina oslobađaju se šećeri iz polifenolnih konjugata i dolazi do hidrolize hemiceluloze hrasta od kojeg su napravljene bačve za čuvanje vina, što utječe na povećanje količine šećera u vinu.<sup>16, 18, 20</sup>

#### **1.4.5. Esteri**

Esteri nastaju reverzibilnom reakcijom alkohola i kiselina. U vinu postoji veliki broj alkohola i kiselina tako da je i velika mogućnost nastanka raznih estera. Dvije su grupe estera u vinu: tzv. „voćni“ esteri nastaju tijekom alkoholne fermentacije i imaju izrazito svjež, privlačan, voćan miris, a druga grupa estera nastaje tijekom starenja vina. Esteri nastali tijekom fermentacije dijele se na acetatne estere viših alkohola i na etilne estere masnih kiselina. Količina estera je u grožđu vrlo mala, ali se zato u vinu povećava. Kako su esteri vrlo hlapljivi spojevi, tijekom prve godine dozrijevanja vina, njihove koncentracije opadaju, a više temperature i oksidativni procesi taj proces još više ubrzavaju. Čuvanje vina na nižim temperaturama jedan je od preduvjeta očuvanja finih, svježih i voćnih mirisa. Esteri su najzaslužniji za voćni miris mladih vina. U vinu je najzastupljeniji ester etil-acetat koji u umjerenim količinama pridonosi voćnosti vina, ali u većim količinama daje tvrd i trpk okus u ustima, osobito kod laganih vina.<sup>16, 18</sup>

#### **1.4.6. Aldehidi i ketoni**

Aldehidi i ketoni su skupina spojeva koji imaju veliki utjecaj na senzorska svojstva vina. U vinu se javljaju u većim i manjim količinama, a najzastupljeniji su acetaldehid i diacetil. Vrlo su reaktivni i lako oksidiraju u karboksilne kiseline, a njihova se aktivnost inaktivira vezivanjem sumporaste kiseline pa je to jedan od razloga sumporenja bačvi. Tvore karakteristične arome, najčešće voćne, i bouquet vina, ali i neke neugodne mirise. Acetaldehid (etanal) je glavni aldehid pronađen u vinu. Igra glavnu ulogu u promjeni boje crnih vina koja nastaje starenjem vina jer olakšava nastanak kopolimera fenola (antocijanini i katehini).

Vinima daje miris svježe rezane zelene jabuke, a uklanja se dodatkom SO<sub>2</sub>. Povećane količine acetaldehida u vinu negativno utječu na okus i bouquet vina, a očituju se u starikavosti i oksidiranosti vina. Od aromatskih aldehida u vinu je još prisutan i vanilin koji daje vinima ugodan miris vanilije.

Ketona u moštu i vinu ima vrlo malo, najzastupljeniji je diketon diacetil ili butan-2,3-dion koji ima aromu maslaca. Nastaje kao sekundarni metabolit alkoholne i jabučno-mliječne fermentacije. Nije stabilan i vrlo brzo se reducira uz pomoć kvasaca u alkohol butan-2,3-diol preko acetona koji ubrzava tu reakciju. Povećane količine diacetila daju neugodnu aromu užeglosti.<sup>18, 19</sup>

#### **1.4.7. Fenolni spojevi**

Fenolni spojevi imaju važnu ulogu u vinarstvu, odgovorni su za sve razlike između bijelih i crnih vina, a posebno za boju i okus crnih vina. Imaju baktericidno i antioksidacijsko djelovanje i na taj način štite organizam od kardiovaskularnih bolesti. Odgovorni su za tzv. „Francuski paradoks“. Struktura fenolnih spojeva će se razlikovati prema uvjetima u kojima je vino čuvano, bilo u bačvi, spremniku ili u boci. Dozrijevanjem grožđa počinju se u bobici grozda stvarati polifenoli, a taj proces ubrzavaju oksidativni procesi. Uz djelovanje enzima polifenoloksidaze, polifenoli se prevode u nestabilni peroksidni oblik što dovodi do posmeđivanja vina. Polifenoli u grožđu i vinu su podijeljeni u 4 skupine: fenolne kiseline, flavoni, antocijani (boje) i katehini i leukoantocijani (tanini).

Fenolne kiseline u vinu se najčešće nalaze u slobodnom obliku ili u obliku estera, a to su vanilinska, galna, siringinska, *p*-kumarinska, ferulinska kiselina i dr. Crna vina su bogatija fenolnim kiselinama u odnosu na bijela. One djeluju baktericidno pa na temelju toga su crna vina zaštićenija od bolesti.<sup>18, 19</sup>

Flavoni su žuti pigmenti koje sadrži kožica bobice svih kultivara vinove loze. Predstavljaju određene markere za definiranje kakvoće u odnosu na izloženost suncu jer direktno apsorbiraju UV zrake tijekom dozrijevanja grožđa. Zbog svojstva kopigmentacije mogu utjecati na povećanje intenziteta boje. Za vrijeme tehnološkog postupka proizvodnje crnog vina provedeno je vrenje masulja, a s time je iz kožice bobice došlo do istjecanja flavona, dok kod bijelog vina ne nalazimo flavone ili ih ima samo u tragovima jer su izostali maceracija masulja i njegovo vrenje.<sup>16, 19</sup>

Antocijani su najveća i najvažnija grupa vodotopljivih pigmenata u prirodi. Nositelji su crvene boje grožđa i mladih vina te smješteni u kožici bobice crnog grožđa. Količina nakupljenih antocijana u kožici bobice grožđa utječe na obojenost crnog vina, razlikuje se od sorte do sorte, ovisi o dozrelosti grožđa i povezana je s vremenskim (ne)prilikama, klimom, tlom i položajem vinograda. Sve forme antocijana su strukturno plave, a ovise o svojim molekulama u otopini gdje boja ovisi o pH-vrijednosti i o koncentraciji SO<sub>2</sub>. Pri nižim pH vrijednostima boja je intenzivno crvena, a pri višim pH-vrijednostima ona postepeno iz crvene prelazi u ljubičastu. To su vrlo nestabilne molekule, a na njihovu stabilnost utječu pH, kisik, temperatura, svjetlost, enzimi, struktura, koncentracija i drugi spojevi poput acetona, etanola i metanola. Starenjem vina sadržaj antocijana se smanjuje pa vino iz jake crvene boje promijeni boju u svjetloružičastu.

Tanini su polifenolni spojevi koji se dijele na katehine i leukoantocijane. Nalazimo ih u sjemenkama grožđa, peteljci, kožici i mesu, odakle prelaze u vino. Opće im je svojstvo da su trpkog i opornog okusa, talože bjelančevine, a s metalima tvore obojene reakcije (crvene, plave ili zelene). Potiču oksidativne promjene posmeđivanja mošta i vina jer vežu najviše kisika, ali dodavanjem SO<sub>2</sub>, koji služi kao reducens, to se sprječava. Tanini su tvari koje zgrušavaju proteine i time uvjetuju bistrenje i taloženje mošta, djeluju fiksirajuće na tvari boje, imaju antiseptičko djelovanje jer štite vino od razvoja octenih bakterija i bolesti vina.<sup>19</sup>

#### **1.4.8. Spojevi sa dušikom**

Dušik je jedan od najzastupljenijih elemenata u svemiru. Atmosfera Zemlje sadrži oko 80% molekularnog dušika. Stanice životinja i biljaka ne mogu apsorbirati molekularni dušik pa ga moraju dobiti mineralnim ili organskim putem. Aminokiseline zajedno s proteinima i peptidima čine glavne predstavnike dušikovih spojeva u moštu i vinu. Služe kao hranjive tvari za kvasce u alkoholnoj fermentaciji, a mogu se metabolizirati uz pomoć bakterija mliječne kiseline koje su odgovorne za proces malolaktične fermentacije. Koncentracija i sastav aminokiselina u moštu i vinu, također, ima utjecaja na stvaranje arome vina. Najjače zastupljene aminokiseline u moštu su arginin i prolin i prema njima se razvrstavaju kultivari vinove loze. U vinu se aminokiseline ponašaju kao koloidi s pozitivnim elektronskim brojem i izazivaju zamućenje vina. Upotrebom bistrila, bjelančevine se talože.

Vina s povećanom koncentracijom aminokiselina imaju izražajnije voćne arome. U zadnjih nekoliko godina velika se pažnja pridaje nastanku biogenih amina. Biogeni amini nastaju zbog loših uvjeta tehnološkog postupka, skladištenja vina u podrumima i drugim čimbenicima okoliša. Danas se ulažu sve veći naponi kako bi se koncentracije biogenih amina mogle lakše kontrolirati jer imaju negativni učinak na zdravlje.<sup>20</sup>

#### **1.4.9. Mineralne tvari (pepeo)**

Mineralne tvari ili pepeo predstavljaju anorganski zaostatak nastao nakon isparavanja vode na vodenoj kupelji i žarenja suhe tvari vina. Vinova loza putem korijenskog sustava iz tla prima mineralne tvari otopljene u vodi koje preko grožđa i mošta dopijevaju u vino. Podrijetlo minerala u grožđu je biološke naravi, ovisi o sorti, stupnju zrelosti, kvaliteti grožđa te o drugim pedološkim, reljefnim i klimatskim uvjetima. Tehnološko podrijetlo mineralnih tvari u moštu i vinu je rezultat rada vinogradara-podrumara, najprije u vinogradu prilikom prskanja-tretiranja vinove loze sredstvima za suzbijanje bolesti i štetnika, koja djelomice ulaze u mošt pa kasnije u vino. Drugi dio je od metalnih dijelova strojeva i pribora u podrumu ako nisu zaštićeni-premazani odgovarajućim bojama. Vinska kiselina iz mošta otapa metal pa je i to podrijetlo dijela metala u vinu. Minerali se u vinu nalaze u obliku kalcijevih, kalijevih ili magnezijevih soli sumporne, fosfatne i ugljične kiseline te ima tragova metala poput bakra, željeza, mangana, molibdena i dr. Značajne su za pravilan tijek alkoholne fermentacije jer su važne za razmnožavanje kvasaca. Mineralne tvari u vinu pojačavaju aromu i sorte karakteristike grožđa. Crna vina u pravilu imaju više mineralnih tvari nego bijela vina.<sup>18, 20</sup>

#### **1.4.10. Ekstrakt**

Ekstrakt predstavlja zbroj svih nehlapljivih sastojaka vina i bitno utječe na kakvoću vina. Vina bogata ekstraktom puna su i harmonična. Ekstrakt predstavljaju sljedeće komponente: ugljikohidrati, glicerol, nehlapljive kiseline, tvari sa dušikom, polifenoli, mineralne tvari i viši alkoholi. Tri se vrste ekstrakta razlikuju u vinu, ukupni, nereducirani ekstrakt bez šećera i reducirani ekstrakt, a još se izračunava i ekstrakt bez šećera i bez hlapljivih kiselina. Sadržaj ekstrakta u vinu je bitan parametar kakvoće vina, crna vina imaju veću količinu ekstrakta nego bijela vina. Klimatski uvjeti tijekom

vegetacije utječu na sadržaj ekstrakta. U toplim i sunčanim godinama s manje oborina više je ekstrakta. Vrsta tla i položaj vinograda, također, utječu na sadržaj ekstrakta kao i tehnologija prerade, duljina maceracije prije fermentacije, jačina prešanja, vrsta kvasaca itd.<sup>19, 20</sup>

## 1.5. SENZORSKA SVOJSTVA VINA

Senzorska svojstva vina su boja, bistrina, miris i okus, dakle ona koja se procjenjuju okom, nosom, njezima i jezikom.

Miris i okus su najvažnija senzorska svojstva vina. Za miris su odgovorni aldehidi, esteri i ketoni, ali samo mali dio ovih tvari mirisa doista i miriše, a to su one hlapljive. Približno osamsto takvih spojeva je znanstveno dokazano; oni se mogu i kemijski egzaktno identificirati. Mirisanjem vina hlapljive tvari ulaze u nos i dolaze u kontakt s nervnim završecima koji se nalaze u krajnjem gornjem dijelu nosne šupljine. Pored ovog, mirisne tvari dolaze u nosnu šupljinu i iz usta tokom probanja okusa vina. Miris i okus povezani su osjeti. Sposobnost razlikovanja okusa ovisi o njemu. Ako nema njega, sposobnost razlikovanja okusa je bitno smanjena. Laganim kružnim pokretanjem vina u čaši i držanjem čaše vina u ruci, temperatura vina se povećava, a s time količina isparljivih tvari. Najšire se mirisi opisuju kao: normalan vinski miris (karakterističan za stolna i vina niže kategorije), muškatni miris (karakterističan za muškatne sorte) i bouquet, to je prijatan i diskretan miris kojeg posjeduju njegovana vina kvalitetnih i visokokvalitetnih sorti grožđa.

Za osjet okusa zaslužni su okusni pupoljci koji su najgušće raspoređeni pri vrhu i korijenu jezika. Okus vina je kompleksan utisak kojeg u osnovi proizvode alkohol, ekstrakt, kiseline, šećer i tanini. Mnogi spojevi arome u vinu mogu se analitički dokazati, ali ne i prepoznati osjetilnim organima jer je njihova koncentracija toliko mala da leži ispod praga osjetljivosti. Stoga, što čovjek može okusiti, to u stvarnosti i miriše pa se okus vina reducira na samo mali broj osnovnih supstanci. Prema utjecaju alkohola na okus vina, vina se doživljavaju i opisuju kao slaba, umjereno jaka ili jaka. Ekstrakt svojim sadržajem utječe na punoću vina, vina s većim sadržajem ekstrakta su punija na okusu. Gradacije okusa pod utjecajem kiselina se opisuju terminima tupo, nedovoljno kiselo, umjereno kiselo i jako kiselo. Slast vina koja potječe od u njemu eventualno

prisutnih šećera se također opisno predstavlja, a taninske tvari stvaraju veću ili manju trpkost vina.<sup>21, 22</sup>

Vino koje je u dobrom stanju trebalo bi biti bistro i čisto, a ne mutno. Danas se sve više napušta trend jake filtracije vina pa je prisustvo sedimenta na dnu boce standardna pojava i kod mladih vina, ne samo kod starih vina. Talog je najčešće kombinacija nataloženih sredstva za bojenje, tanina i soli tartarata, i česta je pojava kod crnih vina. Kod bijelih vina na dnu čaše se mogu vidjeti prozirni kristalići ili sitni mjehurići. Kristali su bezopasni tartarati koji, kao i sediment, ukazuju da vino nije bilo pretjerano tretirano. Kod mladih vina su, također, prisutni bezopasni mjehurići CO<sub>2</sub> koji uzrokuju lagano i osvježavajuće bockanje u ustima. Vina se prema bistrini opisuju kao kristalno bistra vina (bistra i filtrirana vina), bistra vina, magličasto mutna vina (sivi ili bijeli prijelomi), mutna vina (mikrobiološka aktivnost ili kristalizacija vinskog kamena) i jako mutna vina (naknadno vrenje ili kvarenje u tijeku).<sup>3, 21</sup>

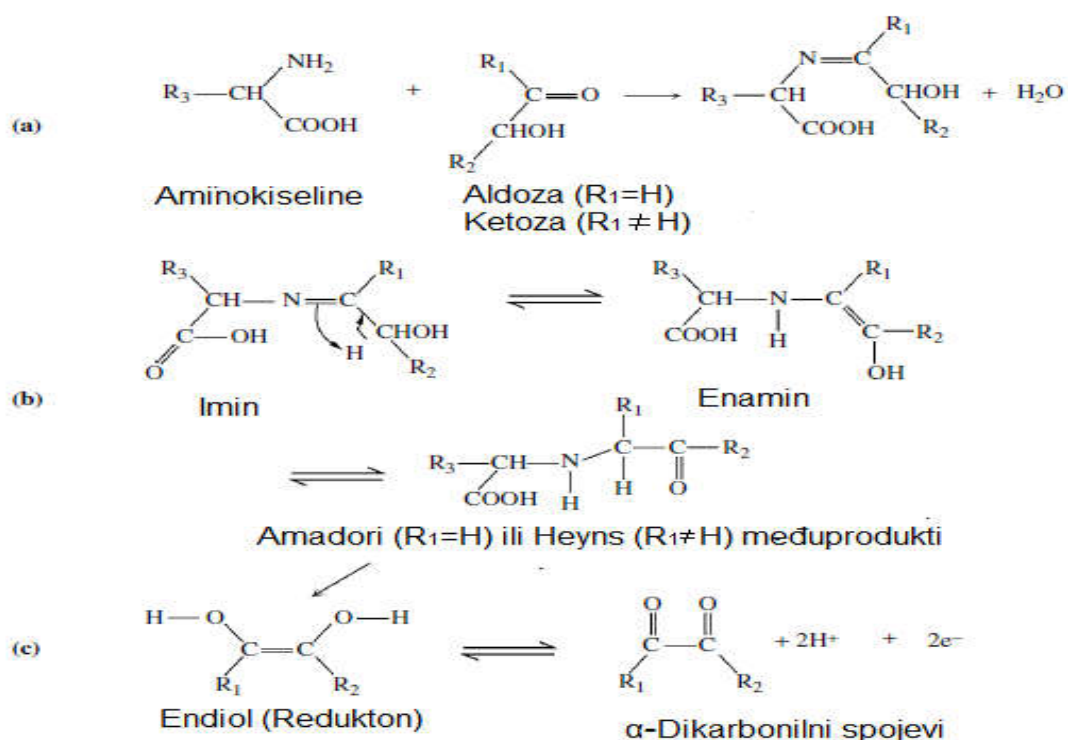
Boja vinu pruža uistinu dobre tragove o njegovoj starosti, načinu sazrijevanja, fermentaciji i na kraju o samoj kvaliteti. Boje bijelih vina variraju od gotovo prozirnih, katkad blago zelenih, do duboke zlatnožute boje. Ružičasta vina, zavisno od tipa, imaju svijetlocrvenu boju slabijeg ili jačeg intenziteta. Boja crnih vina varira od crvene, rubin-crvene do tamnocrvene. Bijela vina s godinama tamne, neka postanu i smečkasta dok crna vina blijede jer gube svoju boju u sedimentu. Podrijetlo vina ima, također, utjecaj na boju vina. Bijela vina iz hladnijih podneblja su bljeđa, više kisela i sporije tamne, dok vina iz toplijih podneblja su žuća, manje kiselkasta i brže stare. Kao i za bijela vina i za crna vrijedi da što je podneblje toplije, boja je tamnija, a što je podneblje hladnije, vina su obično svjetlija.<sup>3</sup>

Unatoč brojnim kemijskim i fizikalnim analizama vina koje daju pomnu i objektivnu analizu sastava vina, bez organoleptičke ocjene, analiza vina se ne može smatrati potpunom. U vinu se nalazi nekoliko stotina različitih spojeva i svaki od njih svojim sadržajem može utjecati na kakvoću vina. Ni vrlo detaljnim kemijskim analizama ne može se doći do informacije o harmoničnosti odnosa mnogobrojnih komponenti vina. Rezultati kemijske i organoleptičke analize međusobno se nadopunjuju čime se dolazi do kompletnog uvida u karakteristike i kakvoću vina. Organoleptičko ocjenjivanje se vrši metodom od 100 bodova koja podrazumijeva detaljnu analizu dojmova koje vino ostavlja na osjetila okusa, mirisa i vida.<sup>21</sup>

### 1.5.1. Maillardove reakcije

Maillardove reakcije su reakcije karbonilnih spojeva i amino skupina. Početni stupanj uključuje kondenzaciju karbonilne skupine (koja se najčešće nalazi u reducirajućim ugljikohidratima, npr. glukoza) sa slobodnom amino skupinom aminokiseline, peptida ili proteina. Kondenzacijom nastaje N-glikozil amin koji eliminacijom vode daje imin (Schiffova baza) koji se pregrađuje u N-glikozilamin. Sljedeći stupanj reakcije uključuje pregradnje: Amadori pregradnja (početni ugljikohidrat, aldoza) i Heyns pregradnja (početni ugljikohidrat, ketoza).<sup>23</sup>

Određeni procesi tijekom vinifikacije, kao što su zagrijavanje grožđa tijekom maceracije te punjenje u boce pri visokoj temperaturi kako bi se postigla sterilnost, potiču Maillardove reakcije. Osim što su zaslužni za stvaranje željenih okusa i boja, produkti Maillardovih reakcija mogu biti i toksični (npr. hidroksimetilfurfural i nitroamin). Maillardove reakcije se najčešće prikazuju shemom (slika 3)



Slika 3. Shema Maillardovih reakcija<sup>18</sup>



Reakcijom između karbonilne skupine reducirajućeg šećera i amino skupine neke aminokiseline dobiju se imini. Nije isto je li reducirajući šećer aldoza (glukoza) ili ketoza (fruktoza). Zbog keto-enolne tautomerije, imini se prevode u tautomerni oblik enamini i onda u Amadori ili Heyns međuprodukte, ovisno o reducirajućem šećeru. Raspadom međuprodukata formiraju se endioli, tzv. reduktoni koji su u ravnoteži s dikarbonilnim spojevima. Ovi spojevi su odgovorni za oksidaciju biljnih tkiva. Streckerovom degradacijom, dikarbonilni spojevi dalje reagiraju s aminokiselinama formirajući Streckerov aldehid ili  $\alpha$ -aminoketon. To je način kako aminokiseline iz mošta dolaze u vino. Aminokiselina alanin, koja je zastupljena u moštu i vinu, prevodi se u etanal, a aminokiselina metionin se prevodi u metional. Metional je jako nestabilan i njegovim daljnjim raspadom nastaju sulfidi, disulfidi, trisulfidi i drugi spojevi koji su vrlo neugodnom mirisa (kuhana cvjetača). Vina koja zahtijevaju najveću zaštitu od visokih temperatura su ona koja imaju visoki sadržaj šećera (slatka vina) i pjenušava vina.<sup>18, 22</sup>

## 1.6. AROMA VINA

Aromu vina u širem smislu se može definirati kao sveukupni doživljaj mirisnih i okusnih svojstava vina, a rezultat je kvalitete grožđa i načina proizvodnje vina. Arome prema njihovom podrijetlu i načinu formiranja možemo podijeliti na:

- Primarne (sortne) arome uključuju spojeve koji se nalaze u grožđu i one spojeve koji nastaju primjenom posebnih tehnologija u predfermentativnoj fazi (npr. prosušivanje grožđa). To su prvenstveno terpenški spojevi, C<sub>13</sub>-norizoprenoidi, hlapljivi tiolski spojevi i pirazini.
- Sekundarne (fermentativne) arome koje su rezultat alkoholne i malolaktične fermentacije. Spojevi koji su odgovorni za ovu aromu su esteri, masne kiseline, viši alkoholi, poliolli, aldehidi, itd.
- Tercijarne (bouquet) arome se formiraju za vrijeme dozrijevanja i starenja vina kemijskim i biokemijskim transformacijama već spomenutih aromatskih spojeva.<sup>24</sup>

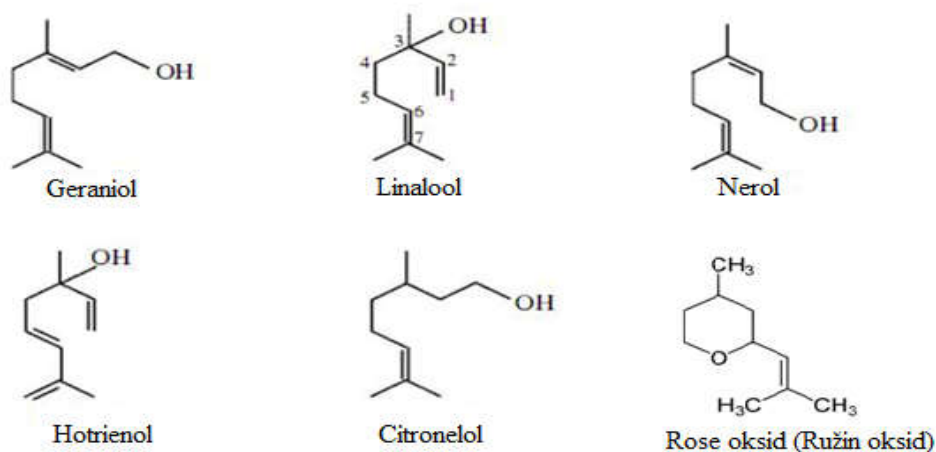
### 1.6.1. Primarne arome vina

Formiranje primarne arome vina započinje u vinogradu pod utjecajem tla, klime, načina uzgoja i gnojenja, a na nju najviše utječe sorta grožđa.

#### Terpeni

Terpeni su nezasićeni ugljikovodici ugodna mirisa. Osnovna strukturna jedinica terpena je izoprenska jedinica (C<sub>5</sub>-jedinica – izoprensko pravilo). Spojevi iz skupine terpena koji pridonose aromi vina su monoterpeni (10 C atoma) i seskviterpeni (15 C atoma), a sastoje se od 2 ili 3 izoprenske jedinice. Monoterpeni i seskviterpeni nastaju sintezom iz izopentenil-pirofosfata (IPP) i dimetilalil-pirofosfata (DMAPP). Prisutni su u svim sortama grožđa, ali samo Traminac mirisavi, Muškat i Rizling imaju nešto veći sadržaj terpena koji im daju cvjetno-voćnu aromu. U bobici grožđa nalaze se u pokožici i mesu i mogu biti u dva oblika: slobodni, hlapljivi i vezani, bez mirisa. Većina terpena u grožđu se nalazi u vezanoj glikozidnoj formi koja nije hlapljiva i nema utjecaja na miris. Tijekom dozrijevanja vina zbog relativno slabih i nestabilnih veza može doći do cijepanja glikozidnih veza i oslobađanja terpena koji će intenzivirati aromu vina. Kako bi se potpomoglo oslobađanje vezanih terpena i poboljšavanje arome, osobito bijelih vina, danas se često dodaju enzimi, uz kratku maceraciju prije alkoholnog vrenja.<sup>16, 25</sup>

Slobodni terpeni, također, ulaze u reakcije razgradnje čime se gubi cvjetno-voćna aroma. Monoterpeni se koriste za sortnu karakterizaciju vina zbog toga što se ne mijenjaju tijekom alkoholne fermentacije jer ne ulaze u metabolizam kvasaca. Na vrstu i koncentraciju monoterpena u vinu utječu zrelost i sorta grožđa, izloženost bobica sunčevim zrakama, upotreba glukozidaza, prešanje i starenje vina. Oko 40 terpenskih spojeva je identificirano u grožđu, a najaromatičniji su monoterpenski alkoholi: citronelol, linalool, geraniol, nerol,  $\alpha$ -terpineol i hotrienol. Rose oksid (ružin oksid) je spoj koji je najaromatičniji među njima i djelomično odgovaran za cvjetnu aromu vina Traminac mirisavi. Glavni alkoholni oblici terpena su prikazani na slici 4.<sup>25, 26</sup>



**Slika 4.** Glavni oblici monoterpenki alkohola u grožđu i vinu <sup>18</sup>

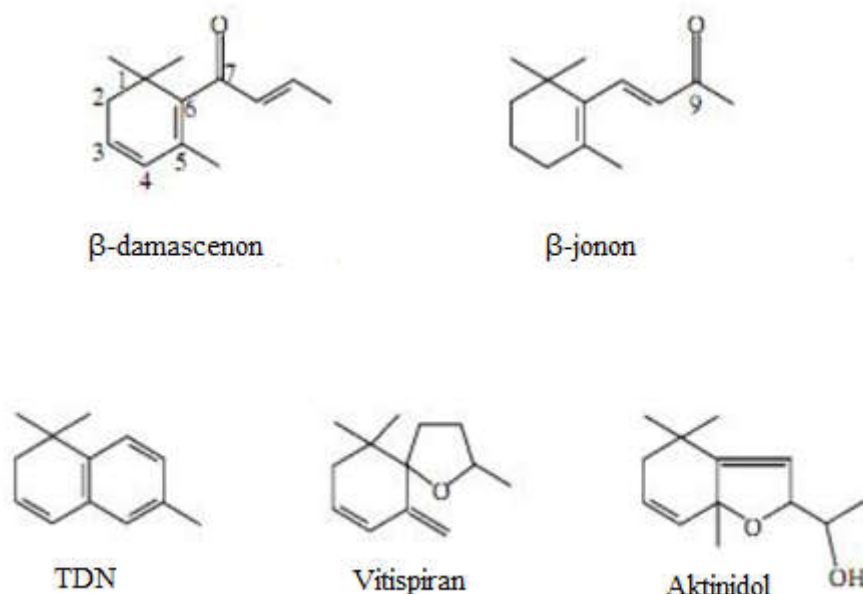
### C<sub>13</sub>-norizorenoidi

C<sub>13</sub>-norizoprenoidi nastaju oksidativnom degradacijom karotenoida (terpeni s 40 C atoma). S obzirom na kemijsku strukturu derivati C<sub>13</sub>-izoprenoida se dijele na megastigmane i ne-megastigmane. Megastigmani i ne-megastigmani obuhvaćaju veliki broj hlapljivih spojeva. Megastigmani u svojoj strukturi imaju benzenski prsten koji je supstituiran na položajima 1C, 5C i 6C, a na položaju 6C nalazi se nezasićeni alifatski lanac s četiri ugljikova atoma.

Megastigmani su oksidirani C<sub>13</sub>-norizoprenoidi koji se dijela na damascenonsku (oksidirani na C7) i na jononsku (oksidirani na C9) grupu. β-Damascenon s kompleksnom aromom koja podsjeća na tropsko voće, cvijeće i kuhanu jabuku ima vrlo nizak olfaktorni prag u vodi i u alkoholnoj otopini. Veće koncentracije su pronađene u crnim vinima nego u bijelim suhim vinima, a visoke koncentracije karakteristične su za muškatne sorte. β-Jonon ima karakterističan miris na ljubičice. Identificiran je u različitim sortama, ali ipak veću ulogu ima u aromi crnog vina.

Ne-megastigman derivati C<sub>13</sub>-norizoprenoida su identificirani u vinu, uključujući i nekoliko spojeva neugodnog mirisa. Najznačajniji spoj je TDN (1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftalen) s karakterističnim mirisom na kerozin. Odgovoran je za fine i petrolejske mirise, dobro poznate u zrelih vinima Rajnskog rizlinga. Ne dolazi do izražaja u mladom vinu i moštu, ali mu se zato koncentracije povećavaju starenjem

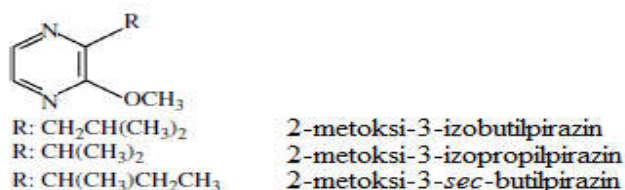
vina. Aktinidol i vitispiran pripadaju ovoj skupini spojeva, a podsjećaju na miris kamfora.<sup>18</sup>



**Slika 5.** Glavni C<sub>13</sub>-norizoprenoidni derivati grožđa<sup>16</sup>

### Metoksipirazini

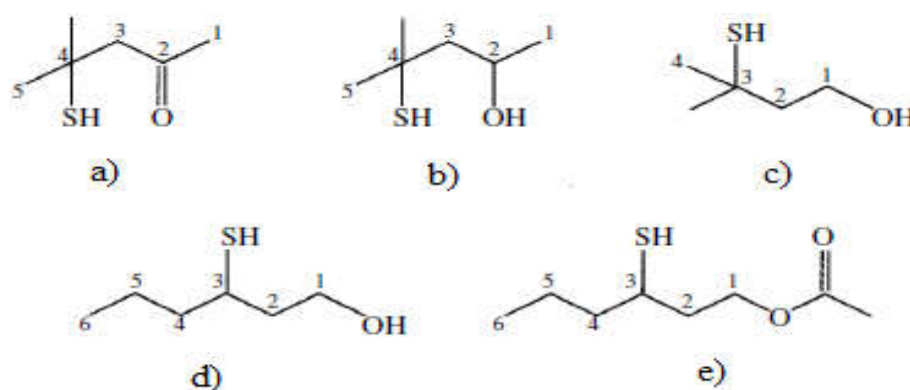
Metoksipirazini su heterociklički aromatski spojevi koji nastaju u bobici grožđa kao proudukti matabolizma aminokiselina. Imaju karakterističan miris na zelenu papriku i zemlju. Tri najznačajnija metoksipirazina su 2-metoksi-3-izobutilpirazin, 2-metoksi-3-*sec*-butilpirazin i 2-metoksi-3-izopropilpirazin. Osim grožđa i biljke kao što su grašak, zelena paprika i krumpir sadrže metoksipirazine. Prvi put je identificiran u grožđu sorte Cabernet Sauvignon, a od tada 2-metoksi-3-izobutilpirazin je pronađen i u drugim sortama grožđa i njihovih vina (Sauvignon bijeli, Merlot, Cabernet Franc, Traminac, Chardonnay, Riezling). Najveće koncentracije 2-metoksi-3-izobutilpirazina sadrži grožđe i vina sorte Cabernet Sauvignon i upravo on definira aromatski profil sorte. Travnata aroma koja više dolazi do izražaja kod nezrelog grožđa nije cijenjena u crnim vinima Bordeaux regije. Koncentracija ostalih metoksipirazina je dosta niža i nema veliki utjecaj na aromu.<sup>18</sup>



**Slika 6.** Glavni predstavnici metoksipirazina <sup>18</sup>

### Merkaptani

Iako je većina spojeva sumpora neugodnog mirisa, za njih nekoliko ustanovljeno je da pridonose aromi mnogih aromatičnih biljaka i voća. Nehlapljivi aromatični S-cistein konjugati su prekursori mnogih hlapljivih tiolskih spojeva. Doprinosu voćnim, citrusnim, mineralnim, zelenim aromama, a starenjem vina javljaju se arome koje podsjećaju na miris dima. Prvi spoj koji je identificiran kao karakterističan za aromu vina Sauvignon blanca je 4-merkaptto-4-metilpentan-2-on (4-MP). Identificirani su i drugi hlapljivi aromatični merkaptani kao što su 3-merkapttoheksil-acetat (3-MHA), 4-merkaptto-4-metilpentan-2-on (4-MMP), 3-merkapttoheksan-1-ol (3-MH), 3-merkaptto-3-metilbutan-1-ol (Slika 7). 3-Merkapttoheksan-1-ol pridonosi aromi Traminca mirisavog i Rizlinga, a mirisom podsjeća na grejpfit i tropsko voće. Za tropsko-voćnu notu vina Sauvignona blanca je zaslužan 3-merkapttoheksil-acetat. Starenjem vina mu se koncentracija smanjuje jer prelazi u 3-merkapttoheksan-1-ol. <sup>18, 27</sup>



**Slika 7.** Aromatični merkaptani prisutni u vinu Sauvignon blanc: a) 4-merkaptto-4-metilpentan-2-on (4-MMP), b) 4-merkaptto-4-metilpentan-1-ol (4-MMPOH), c) 3-merkaptto-3-metilbutan-1-ol (3-MMB), d) 3-merkapttoheksan-1-ol (3-MH), e) 3-merkapttoheksil-acetat (3-MHA) <sup>18</sup>

## **1.6.2. Sekundarne arome vina**

Sekundarne arome vina nastaju tijekom prerade grožđa (muljanjem, ruljanjem, prešanjem i maceracijom) te daljnjim kemijskim i enzimskim reakcijama koje se događaju u procesu alkoholne i malolaktične fermentacije. Svi tehnološki postupci kroz koje grožđe prolazi prije i tijekom alkoholne i malolaktične fermentacije utječu na koncentraciju i intenzitet spojeva arome te na nastajanje novih spojeva.<sup>23</sup>

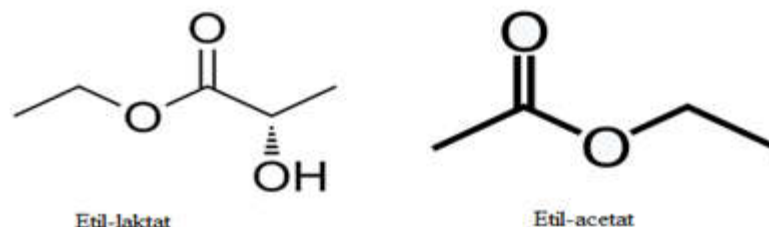
### **1.6.2.1. Alkoholna fermentacija i njen utjecaj na aromu**

Alkoholna fermentacija je niz biokemijskih reakcija u kojima se uz pomoć kvasaca, bakterija i ostalih mikroorganizama provodi transformacija šećera u primarne produkte, etanol i CO<sub>2</sub>, i druge produkte koji su važni za kvalitetu, stabilnost i čuvanje vina. Najvažniji dio arome vina nastaje tijekom alkoholne fermentacije. Važno je voditi računa o uvjetima u kojima se odvija alkoholna fermentacija (pH, temperatura, aeracija, soj kvasaca) jer u slučaju nepovoljnih uvjeta (visoka temperatura) nastaje manji broj hlapljivih spojeva, a povećava se koncentracija nepoželjnih spojeva. Osnovne grupe kemijskih spojeva koji nastaju tijekom alkoholne fermentacije su viši alkoholi, esteri, masne kiseline, karbonilni spojevi sa sumporom i hlapljivi fenoli.<sup>25</sup>

#### Esteri

Esteri dobiveni tijekom alkoholne fermentacije su glavni nosioci cvjetno-voćne arome u vinu i igraju važnu ulogu u senzornom sastavu mladih crnih i bijelih vina. Sorta i zrelost grožđa, ekološki uvjeti, uvjeti prerade grožđa te uvjeti provedbe alkoholne fermentacije i dozrijevanje vina su faktori koji utječu na koncentraciju i sastav estera u vinu. U vinu se prema podrijetlu nastanka dijele na acetatne estere (nastali esterifikacijom između octene kiseline i viših alkohola) i etilne estere masnih kiselina (nastali u reakciji između etanola i prekursora karboksilnih kiselina). Acetatni esteri (izoamil-acetat, feniletil-acetat) imaju intenzivne voćne mirise jabuke, banane i ruže, a pridonose aromatičnoj složenosti neutralnih vina tako da maskiraju sortne arome. Ovi esteri u vinu nastaju kad se fermentacija odvijala sporo zbog nepostojanja kisika i niske temperature mošta. Odvijanje alkoholne fermentacije pri višim temperaturama ima negativan utjecaj na količinu hlapljivih estera jer dolazi do povećane hidrolize i gubitka estera. Stvaranje veće količine estera je povećano kada se u moštu nalazi veći sadržaj aminokiselina.

U vinu su najzastupljenija dva estera etil-acetat i etil-laktat, koji je produkt malolaktične fermentacije (Slika 8).<sup>18, 25</sup>



**Slika 8.** Najzastupljeniji esteri u vinu<sup>28, 29</sup>

### Masne kiseline

Lipidi (zasićene i nezasićene slobodne masne kiseline, steroli, triacilgliceroli, fosfolipidi) imaju glavnu ulogu u metabolizmu stanice kvasca, budući da su stanične membrane izgrađene od lipida. Kao međuprodukt u biosintezi masnih kiselina dugog lanca nastaju masne kiseline srednjeg lanca (C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>) koje čine bitnu komponentu u aromi vina. Koncentracije masnih kiselina srednjeg lanca ovisne su o vrsti kvasaca, sastavu mošta i uvjetima fermentacije (temperatura, pH, aeracija). Sadržaj kapronske (heksanske) kiseline se povećava smanjenjem temperature fermentacije dok se sadržaj kaprilne (oktanske) i kaprinske (dekanske) ne mijenja.

Povećani sadržaj netopljivih čestica iz grožđa tijekom fermentacije snižava koncentraciju masnih kiselina u vinu. Osim toga, koncentracija masnih kiselina ovisi i o ravnoteži između njihove proizvodnje i upotrebe za sintezu lipida i masnih kiselina dugog lanca, njihovih izlučivanja i kemijskih modifikacija. Enzimske i kemijske esterifikacije s etanolom su razlog dvostrukog smanjenja koncentracije masnih kiselina u zadnjim satima alkoholne fermentacije.<sup>24</sup>

### Viši alkoholi

Viši alkoholi su najvažnija skupina hlapljivih spojeva koji nastaju deaminacijom i dekarboksilacijom odgovarajućih aminokiselina ili sintezom iz šećera. Na nastajanje viših alkohola tijekom fermentacije utječe nekoliko čimbenika, a to su vrste kvasaca, početni šećer, temperatura fermentacije, pH, dušik, aeracija i sorta grožđa.

Količina aminokiselina u moštu je od velikog značaja jer one predstavljaju izvor dušika i sudjeluju kao prekursori tijekom sinteze viših alkohola. Glavni predstavnici viših alkohola su 2-metilpropan-1-ol (izobutanol), 2-metilbutan-1-ol (amilni alkohol), 3-metilbutan-1-ol (izoamilni alkohol) i aromatski alkoholi 2-feniletanol i tirozol. Izoamilni i amilni alkohol imaju miris razrjeđivača ili laka za nokte, dok aromatski alkoholi imaju medne ili začinske arome. Veća količina viših alkohola u vinu daje neugodne arome ili pak može maskirati sortne arome. Crna vina imaju veći udio viših alkohola nego bijela zahvaljujući različitim tehnologijama proizvodnje. Viši alkoholi su prekursori nastanka estera, ugodnih i poželjnih aroma vina.<sup>20, 25</sup>

#### **1.6.2.2. Malolaktična fermentacija i njen utjecaj na aromu vina**

Malolaktična fermentacija je biološki proces koji se provodi nakon alkoholne fermentacije djelovanjem bakterija mliječne kiseline. Tijekom malolaktične fermentacije jabučna kiselina se dekarboksilira u mliječnu kiselinu uz nastajanje CO<sub>2</sub>. Visoka ukupna kiselost kod vina posljedica je veće koncentracije jabučne kiseline u vinu koja mu daje grubi, kisel i neharmonični okus. Vina kod kojih je završila malolaktična fermentacija ne sadrže više jabučnu nego mliječnu kiselinu, okus im je mekši i blaži, a aroma puno kompleksnija nego kod vina kod kojih nije nastupila malolaktična fermentacija. Provodi se u slučaju povećane kiselosti vina te utječe na aromatični profil vina. Poželjna je kod crnih vina, vina za šampanjizaciju i kod dobro dozrelih bijelih vina kod kojih se traži određeni karakter starosti. Malolaktična fermentacija je nepoželjna kod vina koja prirodno sadrže manje kiseline, kod vina koja su dobivena od sorti koje posjeduju izrazita organoleptička svojstva i kod ružičastih vina kojima je svojstvena svježina okusa. Proces malolaktične fermentacije treba kontrolirati kako ne bi došlo do neželjenih promjena u mirisu i okusu vina koje podsjećaju na sumporovodik ili na pokvarena jaja, kisel kupus ili krastavce.<sup>19, 25</sup>

#### **1.6.3. Tercijarne arome vina**

Nazivaju se još i postfermentativnim aromama jer nastaju nakon fermentacije (vinifikacije) vina za vrijeme odležavanja (dozrijevanja i starenja) vina u boci ili bačvi. Vrijeme dozrijevanja je različito od sorte do sorte, vrste i kvalitete vina. Treba biti dovoljno dugo kako bi se vino stabiliziralo, ali i pripremilo za boce u kojima će se



odvijati starenje vina. U vinu se tijekom odležavanja događaju brojne promjene koje utječu na aromu, boju i miris. Uvjeti u kojima je vino skladišteno i obrađeno kao i vrsta bačvi imaju vrlo značajan utjecaj na razvoj aroma. Idealna temperatura podruma treba biti 11-13°C, a relativna vlažnost zraka ne bi smjela biti ispod 70-80%. Reakcije koje su najzaslužnije za razvoj tercijarnih aroma su oksidacija postojećih aromatičnih spojeva i ekstrakcija sastojaka iz drveta bačve, ukoliko vino odležava u bačvama. Oksidacijom dolazi do povećane koncentracije aldehidnih sastojaka, uključujući acetaldehid koji nastaje oksidacijom etilnog alkohola, a mirisom podsjeća na dunju, jabuku, suho orašasto voće. Ekstrakcijom sastojaka podrijetlom iz drvenih bačvi u vino dospijevaju različiti aromatični spojevi kao što su aldehidi, ketoni, laktoni i hlapljivi fenoli. Koncentracija i sastav hlapljivih spojeva koji potječu iz drveta bačve ovise o njezinom podrijetlu (vrsta drveta, geografska regija, starost drveta) i o načinu proizvodnje (tretman sušenja hrasta, stupanj prženja). Prirodnim sušenjem u drvu se povećavaju koncentracije aromatskih spojeva kao što su vanilin i eugenol, a umjetnim se povećavaju koncentracije tanina i kumarina. Jačim paljenjem pojačavaju se arome vanilije, karamele, oraha, maslaca i cedra, a gube se arome grožđa. Vina koja duže vremensko razdoblje odležavaju u bačvama dobivaju posebnu aromu koju potrošači jako cijene i postižu vrlo visoke cijene na tržištu. Arome koje se ekstrahiraju iz drveta mogu se podijeliti u 4 grupe: furani, laktoni, fenolni aldehidi i fenoli.<sup>18, 24</sup>

### Furani

Nastaju razgradnjom šećera i daju miris bajama i lješnjaka. Najzastupljeniji su: 5,6-dihidro-4-metil-2H-piran-2-on i tetrahidro-hidroksi-3-metil-2,4(H)-piranon.

### Laktoni

Laktoni su jedni od glavnih hlapljivih komponenti koji su prisutni u ekstraktivnom dijelu hrastovine. *Cis*- i *trans*- hrastov lakton (whiskey lakton) punog naziva *cis (trans)*-3-metil- $\gamma$ -oktalakton najvažniji je aromatični spoj koji je odgovoran za arome vanilije i kokosa. Nalaze se u sirovom drvetu, a koncentracije su im različite od uzorka do uzorka, a mogu biti uvjetovane i načinom paljenja bačve. Pojačano paljenje može usporiti njihovu ekstrakciju i tako umanjiti njihov utjecaj na aromu vina. Pri niskim koncentracijama daju aromu sirovog drveta, a pri višim koncentracijama aromom podsjećaju na kokos.

### Fenolni aldehidi

Nastaju degradacijom lignina i daju finu aromu na vaniliju. Dva najznačajnija fenolna aldehida su vanilin i siringaldehid. Vanilin je glavni kemijski spoj u vaniliji. U velikim količinama se ekstrahira iz paljenog drveta tijekom degradacije lignina i jedan je od nositelja arome kod vina koja su odležana u barrique bačvama. Način sušenja, tip drveta i jačina paljenja jako utječu na količinu ekstrahiranog vanilina u vinu. Srednje paljene bačve imaju najviše vanilina.

### Fenolne kiseline

Gvajakol i njegovi 4-etil i 4-vinil derivati, uz eugenol i izoeugenol, glavni su isparljivi fenoli koji imaju utjecaj na senzorska svojstva vina koja su dobivena u drvenim bačvama. Ovi spojevi su ujedno i indikatori jačine paljenja bačvi. Pridonose začinjenim, dimnim, prženim aromama vina.<sup>24</sup>

## **1.7. METODE IZOLACIJE HLAPLJIVIH SPOJEVA U VINU**

Prisutnost hlapljivih spojeva u vinu jedna je od važnijih značajki konačne kvalitete vina. U vinu je identificirano više od 800 hlapljivih spojeva koji potječu ili iz grožđa ili se formiraju prije ili poslije procesa fermentacije. Prije početka izolacije hlapljivih spojeva potrebno je poznavati uzorak i moguće aromatične spojeve koji se mogu očekivati u njemu. Odabrana metoda izolacije treba osigurati izolaciju arome s minimalnim gubitcima i bez nastajanja neželjenih nusprodukata. U cilju dobivanja cjelovitog profila aromatičnih spojeva treba imati na umu sve prednosti i nedostatke različitih metoda izolacije hlapljivih spojeva. Klasične metode za izolaciju hlapljivih spojeva su metode ekstrakcije otapalima, destilacijske metode, a moderniji pristup izolacije hlapljivih spojeva uključuje upotrebu mikrovalne ekstrakcije (ekstrakcija otapalom potpomognuta mikrovalovima), ultrazvučne ekstrakcije (ekstrakcija otapalom potpomognuta ultrazvukom), ekstrakcije superkritičnim i subkritičnim fluidima (ekstrakcija s CO<sub>2</sub>), tehnike „vršnih para“ i sorpcijske tehnike.<sup>23, 30</sup>

Za određivanje profila hlapljivih spojeva, odnosno određivanje sastava i sadržaja hlapljivih spojeva u vinu, koriste se najčešće ekstrakcija tekuće-tekuće i mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi. Izolirani spojevi se analiziraju plinskom kromatografijom u kombinaciji sa spektrometrijom masa (vezani sustav plinska kromatografija-spektrometrija masa, GC-MS). Destilacijske metode ili istovremena destilacija-ekstrakcija nisu pogodne jer uključuju zagrijavanje uzorka i mogućnost nastanka neželjenih nusprodukata te gubitak hlapljivih tvari. Tehnike vršnih para (statička i dinamička) bile su naširoko korištene za analizu vršnih para grožđa i vina, ali danas se manje koriste. Statička izolacija vršnih para ima vrlo slabu osjetljivost za isparljive spojeve koji se nalaze u tragovima, a kod dinamičke izolacije vršnih para postoji velika mogućnost nastajanja smetnji izazvanih od strane vode i etanola.<sup>23, 31</sup>

### **1.7.1. Ekstrakcija**

Ekstrakcija je jedna od metoda za pročišćavanje i za izolaciju neke tvari iz otopine, suspenzije, emulzije ili iz krute smjese pomoću otapala. Temelji se na različitoj topljivosti tvari koje želimo izolirati iz smjese i primjesa koje prate tvar, u dva otapala koja se ne miješaju. Prilikom toga dolazi do razdjeljivanja tvari između dva otapala. Uspješnost ekstrakcije ovisi o uvjetima provođenja samog procesa, sastavu i vrsti otapala te o veličini čestica. Prednost se daje otapalima koja su nereaktivna prema prisutnim tvarima, lako hlapljivim otapalima kako bi se mogli lakše ukloniti nakon ekstrakcije, ekstrahirana tvar mora biti dobro topljiva u otapalu, otapalo i otopina iz koje ekstrahiramo željene tvari moraju imati različitu gustoću, otapalo treba biti što manje zapaljivo, neškodljivo za ljude i opremu, tj. ekološki prihvatljivo i jeftino. Otapala koja se najčešće koriste su dietil-eter, diklormetan, kloroform, petroleter i drugi.<sup>30</sup>

#### Ekstrakcija tekuće-tekuće

Postupak klasične ekstrakcije tekuće-tekuće je važna i vrlo česta separacijska tehnika u kojoj dolazi do raspodjele tvari između dvije tekuće faze koje se ne miješaju. Najčešće se radi o vodenoj otopini tvari koju želimo izolirati ekstrakcijom korištenjem pogodnog organskog otapala. Ekstrakcija s organskim otapalom provodi se u lijevku za odjeljivanje (diskontinuirano) ili u komercijalno dostupnim ekstraktorima (kontinuirano) koji se razlikuju po izvedbi i ovisno o tome da li se koriste otapala lakša ili teža od vode. Ekstrakcija hlapljivim organskim otapalima danas je jedna od važnijih ekstrakcijskih metoda.

Izbor otapala ovisi o njegovoj selektivnosti (polarnosti), stabilnosti, temperaturi vrenja (niska temperatura vrenja) i sigurnosti pri rukovanju (netoksično, nezapaljivo, ekološki prihvatljivo). Najčešće upotrebljavana otapala su diklormetan, smjesa pentana i dietil-etera, heksan, freoni (freon 11), etanol i aceton. Danas se koriste i nova otapala tzv. superkritični fluidi (CO<sub>2</sub> ili N<sub>2</sub>). Pogodna otapala su ona koja ekstrahiraju i polarne i nepolarne hlapljive spojeve. Prednosti ove ekstrakcije su jednostavnost izvedbe i dobra ekstrakcija aromatičnih spojeva (najbolja kvantitativna metoda od svih izolacijskih metoda). Korištenjem otapala niske temperature vrelišta uklanja se mogućnost nastanka neželjenih nusprodukata zbog reakcija toplinske razgradnje. Organsko otapalo može kontaminirati uzorak, a njegovo uklanjanje može dovesti do gubitka jednog dijela hlapljivih spojeva. Nedostaci ove metode su pojave emulzije za vrijeme ekstrakcije, slabo odjeljivanje faza, potrebna je velika količina uzorka za dobivanje koncentriranog ekstrakta te pik otapala u kromatogramu može prekriti rano izlazeće hlapljive tvari.

Za razbijanje emulzija se koristi centrifugiranje ili filtracija, a za sprječavanje nastanka emulzija te za bolje razdjeljivanje slojeva koristi se zasićena vodena otopina NaCl, umjesto destilirane vode. Tijekom ekstrakcije organskih tvari iz vodene otopine, određena količina vode se otopi u organskom otapalu, a dijelom i emulgira. Stoga se koriste različita sredstva za sušenje koja ne smiju biti topljiva u organskom otapalu i ne smiju reagirati s otapalom niti s otopljenom tvari. Najčešće su u upotrebi bezvodni natrijev sulfat, magnezijev sulfat, kalcijev klorid, a za sušenje amina se upotrebljavaju natrijev ili kalijev hidroksid dok se za jako sušenje organskih otapala koristi natrij koji s vodom tvori hidrokside ili koncentrirana H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.<sup>23, 30</sup>

### **1.7.2. Sorpcijske tehnike**

Prednosti sorpcijskih tehnika su brza ekstrakcija bez korištenja otapala i predkoncentracija aromatičnih spojeva. Temelje se na raspodjeli organskih spojeva između vodene ili parne faze i tankog polimernog filma. Najpoznatije i najviše korištene tehnike su mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi i sorpcijska ekstrakcija na miješajućem štapiću.<sup>23</sup>

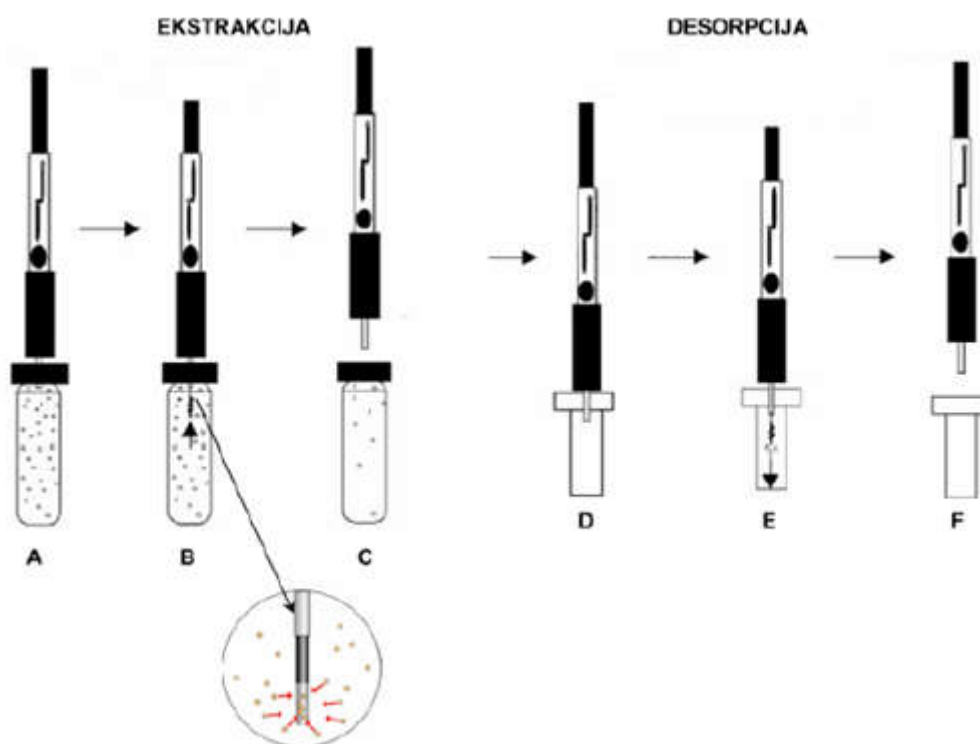
#### **1.7.2.1. Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi (HS-SPME)**

Mikroekstrakcija vršnih para na krutoj fazi (engl. *headspace solid phase microextraction*, HS-SPME) je metoda koju su 1990. izumili dr. Janusz Pawliszyn

i njegovi suradnici na Sveučilištu u Waterloo-u, Kanada.<sup>32</sup>

HS-SPME omogućuje uzorkovanje, ekstrakciju i koncentriranje u jednom koraku bez otapala, a njezino korištenje smanjuje vrijeme pripreme uzorka i povećava osjetljivost u odnosu na druge ekstrakcije. Stoga se može smatrati vrlo jednostavnom, učinkovitom i ekološki prihvatljivom metodom.<sup>31</sup>

Ova tehnika koristi silikonsko vlakno (duljine 1 do 2 cm) napravljeno od odgovarajućih polimera koje služi za sakupljanje hlapljivih spojeva uzorka. Na tržištu postoji veliki broj različitih vrsta vlakana, a najčešće su u upotrebi njih 4. To su polidimetilsiloksan (PDMS), polidimetilsiloksan-divinilbenzen (PDMS-DVB), karboksen-polidimetilsiloksan (CAR-PDMS) i polidimetilsiloksan-divinilbenzen-karboksen (PDMS-DVB-CAR). Tip vlakna utječe na selektivnost ekstrakcije, polarna vlakna apsorbiraju polarne spojeve, a nepolarna vlakna apsorbiraju nepolarne spojeve. Shematski prikaz koraka HS-SPME je prikazan na slici 9.<sup>23</sup>



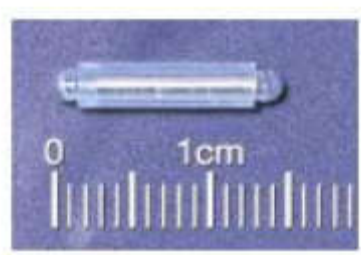
**Slika 9.** Koraci ekstrakcije i desorpcije kod HS-SPME<sup>23</sup>

Nakon bušenja septuma bočice u kojoj je prethodno stavljena određena količina uzorka, izvlači se vlakno i uvodi u vršne pare iznad uzorka, a može se uroniti u tekući uzorak. Nakon točno određenog vremena u kojem su se hlapljivi spojevi apsorbirali na prekrivaču vlakna, vlakno se uvlači u iglu, a zatim se igla uvodi u injektor plinskog kromatografa gdje se desorbira. SPME vlakno se re-kondicionira zagrijavanjem u injektoru plinskog kromatografa 5-15 min. Nedostaci ove tehnike su što je aromatični profil sakupljenih hlapljivih spojeva ovisan o vrsti, debljini i dužini korištenog vlakna, kao i o temperaturi i vremenu uzorkovanja, a neka vlakna su diskriminirajuća za polarne spojeve.<sup>23</sup>

#### 1.7.2.2. Sorpcijska ekstrakcija na miješajućem štapiću (SBSE)

Sorpcijska ekstrakcija na miješajućem štapiću (engl. *stir bar sorptive extraction*, SBSE) je vrlo slična HS-SPME tehnici, a koristi miješajući štapić sa staklenom prevlakom prekriven filmom adsorbensa (najčešće polidimetilsiloksan, PDMS). To je tehnika koja se koristi za analizu hlapljivih i djelomično hlapljivih spojeva u vodenim uzorcima. U usporedbi s HS-SPME, SBSE ima bolju osjetljivost i regeneraciju.

Miješajući štapić se uranja u tekući uzorak te se okreće (magnetskom miješalicom) za vrijeme sorpcije spojeva. Štapić se može postaviti i iznad otopine uzorka (bez miješanja) za sakupljanje vršnih para. Nakon 30-120 minuta štapić se uklanja, a sakupljeni spojevi se ili ekstrahiraju otapalom ili se desorbiraju u plinskom kromatografu. Prednosti ove tehnike su jednostavnost i brza upotreba, nema otapala, male količine uzorka potrebne za analizu i vrlo je pogodna za analizu alkoholnih pića. Nedostaci su nemogućnost adsorpcije polarnih spojeva jer se koristi nepolarni adsorbens (PDMS) i mogućnost gubitka adsorbiranih spojeva ako se desorpcija ne napravi ubrzo nakon uzorkovanja.<sup>23, 32</sup>



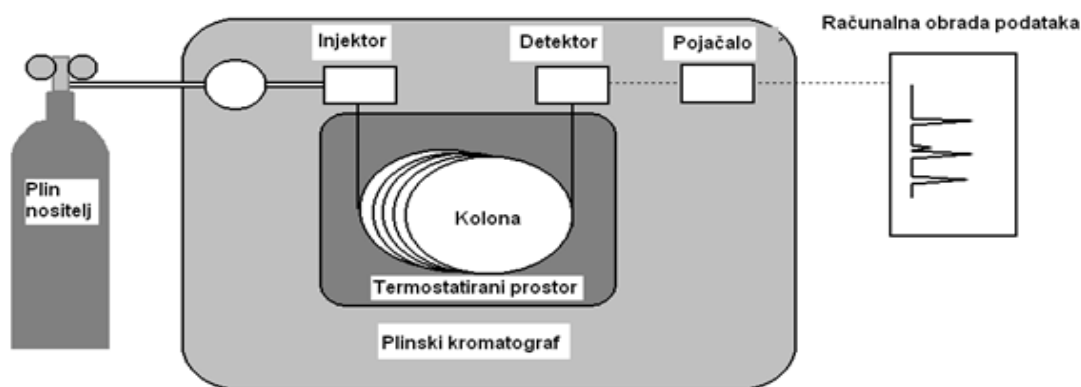
**Slika 10.** Miješajući štapić<sup>23</sup>

### 1.7.3. Analiza hlapljivih spojeva

Najviše korištena metoda za analizu hlapljivih spojeva je plinska kromatografija sa masenim spektrometrom kao detektorom. Plinska kromatografija i masena spektrometrija su komplementarne metode, a njihovom kombinacijom postiže se osjetljivost tehnike u redu pikogramskih i femtogramskih količina tvari.<sup>33</sup>

#### 1.7.3.1. Plinska kromatografija

Plinska kromatografija (engl. *gas chromatography*, GC) je uz, visoko djelotvornu tekućinsku kromatografiju, (HPLC), najpogodnija kromatografska metoda za odjeljivanje, kvantitativnu analizu i izolaciju komponenti smjese. Pogodna je za analizu hlapljivih spojeva, djelomično polarnih te termički stabilnih spojeva. Mobilna faza (tzv. plin nositelj) je inertni plin, najčešće helij ili dušik, a stacionarna faza je tekućina nanosena na neki kruti nosač (punjene kolone) ili vezana za stijenke kapilare (kapilarne kolone). Uređaj za plinsku kromatografiju, plinski kromatograf, sastoji se od injektora, kromatografske kolone u termostatiranom bloku i detektora. Na slici 11. prikazan je shematski prikaz plinske kromatografije.



**Slika 11.** Shematski prikaz plinske kromatografije, (GC)

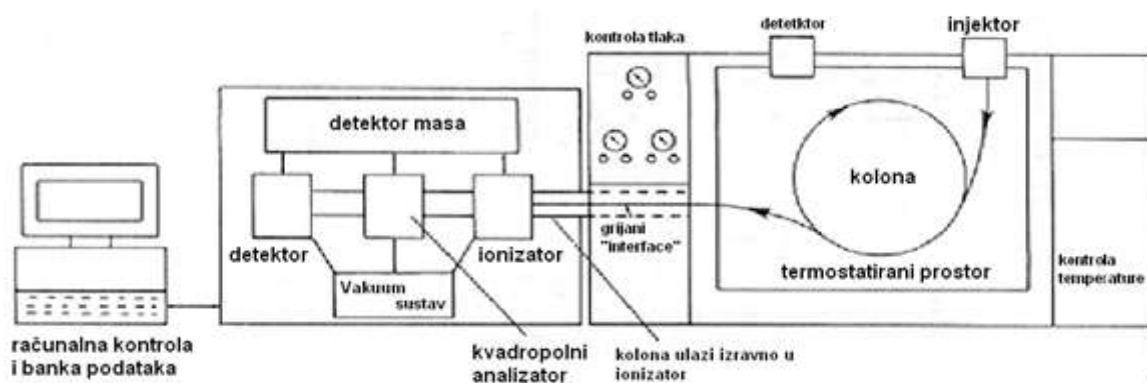
Uzorak se injektira u injektor i ispari te tako ulazi u plinski tok nošen mobilnom fazom, tzv. plinom nositeljem, do kolone za odvajanje. Unutar kolone dolazi do razdvajanja sastojaka uzorka ovisno o njihovim fizikalnim i kemijskim svojstvima te ih mobilna faza iznosi iz kolone i prenosi do detektora. Detektor konvertira detektirane promjene (brz odziv na male promjene koncentracija sastojaka) u električni signal koji se ispisuje kao kromatogram. Proces odjeljivanja sastojaka u koloni se odvija pri temperaturi pri kojoj se postiže najbolje odjeljivanje sastojaka smjese.

Karakterističan podatak za svaki sastojak koji izlazi iz kromatografske kolone je retencijsko vrijeme koje se mjeri od trenutka injektiranja uzorka do pojave maksimuma pika dotičnog sastojka. Sastojci smjese koji su se odijelili se uz pomoć različitih detektora detektiraju i identificiraju. Najčešće korišteni detektori su plameno-ionizacijski detektor (*flame-ionisation detector*, FID) i spektrometar mase (*mass spectrometer*, MS). Spektrometrija masa je metoda strukturne analize, tj. metoda identifikacije ispitivane tvari jer je spektar masa karakterističan za ispitivanu tvar.<sup>33</sup>

### 1.7.3.2. Vezani sustav plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS)

Vezani sustav plinska kromatografija-spektrometrija masa je moćna analitička tehnika koja se koristi za istraživanje hlapljivih spojeva. Ove dvije metode se izvrsno nadopunjuju i njihovom kombinacijom dobiva se maksimum podataka uz korištenje minimalne količine materijala.

Obje metode rade s uzorkom u plinskoj fazi tako da ono što je odvojeno plinskim kromatografom može se lako analizirati spektrometrijom masa. Plinska kromatografija je izvrsna metoda za odjeljivanje i kvantizaciju, a nepouzdana za kvalitativnu analizu dok je spektrometrija masa vrlo pogodna za kvalitativnu analizu. Osjetljivost obje metode je vrlo velika, reda veličine  $10^{-12}$  g i  $10^{-15}$  g. Takva osjetljivost se danas ne može postići niti jednom drugom tehnikom pa nije ni čudno što GC-MS ima vrlo široku primjenu.<sup>33</sup>



Slika 12. Shema vezanog sustava plinska kromatografija-spektrometrija masa<sup>33</sup>



## **2. EKSPERIMENTALNI DIO**

## 2.1. IZBOR MATERIJALA

Vino koje je analizirano u ovom radu podrijetlom je iz Iločkih podruma. Iločki podrumi spadaju među najstarije podume u Republici Hrvatskoj. Najpoznatije vino iz Iloka, Traminac, od izvorne njemačke sorte, pokazalo je svoje najbolje značajke upravo na ovom području. Klimatski i pedološki uvjeti Srijemsko vinogorje svrstavaju u samo središte hrvatskog vinogradarstva, jer nema pogodnijeg područja u kontinentalnoj Hrvatskoj za uzgoj vinove loze. Vina iz Iločkih podruma zbog svoje prepoznatljivosti okusa i visoke kakvoće priznata su i višestruko nagrađivana u Hrvatskoj kao i diljem Europe.<sup>9</sup>

Za dobivanje aromatičnog profila vina Traminac te usporedbu hlapljivih spojeva, korišteno je vino Traminac berbe 2016, vino Traminac ledene berbe 2007 i vino Traminac kasne berbe 2012. Traminac berbe 2016 je kvalitetno vino, svijetložute boje i prepoznatljivog mirisa i bouquet-a sorte Traminac. U okusu je elegantno, svježije, harmonično i meko. Vino Traminac ledene berbe 2007 je vrhunsko predikatno vino proizvedeno od smrznutih bobica grožđa, ubranih za vrijeme najhladnijih zimskih dana, kada se bobice u smrznutom stanju beru i prerađuju. Vino je iznimne kakvoće, zlatno žute do jantarne boje, bogatog, zaokruženog i punog okusa, u mirisu izraženih mednih nota. Vino Traminac kasne berbe 2012 je vrhunsko predikatno vino, zlatno žute boje, intenzivno razvijenog i bogatog mirisa koji podsjeća na ružu i muškate.<sup>34</sup>

## 2.2. KEMIČALIJE I APARATURA

### Kemikalije:

- pentan, p.a., Kemika, Zagreb, Hrvatska
- dietil-eter, p.a., Kemika, Zagreb, Hrvatska
- diklormetan, p.a., Gram-Mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska
- natrijev sulfat, bezvodni, p.a., Gram-Mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska

**Aparatura:**

- magnetska miješalica, Heidolph MR her-Standards s termostatom Heidopolh EKT 3001, Njemačka
- centrifuga, Centric 322A, Tehnica, Slovenija
- vezani sustav plinska kromatografija-spektrometrija masa, Agilent Technologies Santa Clara, SAD:
  - plinski kromatograf, model 7820A
  - spektrometar masa, model 5977E.

## **2.3. IZOLACIJA HLAPLJIVIH SPOJEVA**

### **2.3.1. Ekstrakcija tekuće-tekuće**

Ekstrakcija tekuće-tekuće je jedna od metoda izolacije hlapljivih spojeva u vinu uz uporabu organskih otapala težih ili lakših od vode.

U Erlenmeyerovu tikvicu od 250 mL s brušenim čepom stavljeno je 50 mL uzorka (vina), 25 mL smjese otapala (pentan:diethyl-eter, 1:2 v/v), 3 žličice kuhinjske soli (NaCl) i magnet te je tikvica zatvorena. Erlenmeyerova tikvica je postavljena na magnetsku miješalicu koja je podešena na 500 okretaja u minuti, 45 minuta na sobnoj temperaturi. Po završetku ekstrakcije, stvorila se emulzija pa je smjesu bilo potrebno ostaviti nekoliko minuta da odstoji. Ekstrahirane tvari zajedno s otapalom čine organski sloj, a uzorak (vino) predstavlja vodenii sloj. Otapalo, smjesa pentan:diethyl-eter, je lakše od vode tako da organska faza predstavlja gornji sloj. Uz pomoć kapaljke gornji organski sloj je odvojen od vodenog. Za razdjeljivanje organske faze od zaostale vode, korištena je filtracija preko lijevka uz dodatak bezvodnog natrijeva sulfata na pamuku. Za daljnju analizu, ekstrakt je uparen frakcijskom destilacijom do volumena od 1 do 2 mL te prebačen u malu vijalicu koja se koristi kod GC-MS analize za autosampler.

Isti postupak se provodi i s diklormetanom. Međutim, diklormetan je otapalo koje je teže od vode i predstavlja donji sloj u tikvici. Dolazi do stvaranja emulzije koju je moguće ukloniti centrifugiranjem pa se smjesa centrifugira 10 minuta na 4000 okretaja u minuti. Kapaljkom se donji sloj prenese u tikvicu i potom upari frakcijskom

destilacijom na volumen od 1 do 2 mL i prenese u vijalu za GC-MS analizu. Na slici 13. prikazana je aparatura za ekstrakciju tekuće-tekuće.



**Slika 13.** Aparatura za ekstrakciju tekuće-tekuće

## 2.4. GC-MS ANALIZA HLAPLJIVIH SPOJEVA

Analiza hlapljivih spojeva provedena je plinskom kromatografijom-spektrometrijom masa (GC-MS). Korišten je vezani sustav GC-MS proizvođača Agilent Technologies koji se sastoji od plinskog kromatografa 7820A i spektrometra masa 5977E te računala (Slika 14). Analize su izvršene na koloni sa nepolarnom stacionarnom fazom (HP-5MS), proizvođač J&W (5% difenil-95% dimetilpolisiloksan; 30 m × 0,25 mm; debljina sloja stacionarne faze 0,20 µm). Plin nositelj je helij, protoka 1 mL/min; omjer cijepanja 1:50, temperatura injektora 250 °C; temperatura detektora 280 °C; energija ionizacije 70 eV. Temperatura peći je programirana kako slijedi: zadržavanje 3,5 min na 70°C, zatim 70 do 200 °C brzinom od 3 °C/min i zadržavanje 20 min na 200 °C.

Identifikacija pojedinačnih spojeva provedena je usporedbom njihovih vremena zadržavanja s vremenima zadržavanja već poznatih tvari iz smjesa hlapljivih spojeva prethodno analiziranih GC-MS sustavom u Zavodu za organsku kemiju. Osim toga identifikacija je provedena i usporedbom masenih spektara tih spojeva s masenim

spektrima iz komercijalnih biblioteka masenih spektara (Wiley 09 i NIST14) i /ili usporedbom s masenim spektrima iz literature.

Za svaki uzorak, analiziran vezanim sustavom GC-MS, dobiveni su sljedeći rezultati:

- kromatogram
- retencijsko vrijeme (vrijeme zadržavanja) koje je na kromatogramu predstavljeno pikom
- maseni udio svakog spoja u uzorku (u %) koji predstavlja udio površini pika u ukupnoj površini svih pikova
- naziv spoja ili spojeva čiji je spektar najslićniji spektru nepoznate komponente



**Slika 14.** Vezani sustav plinska kromatografija-masena spektrometrija (GC-MS)

### **3. REZULTATI**

U radu su pripremljeni sljedeći uzorci hlapljivih spojeva vina:

- **uzorak 1** - Traminac, kvalitetno vino 2016, dobiven ekstrakcijom smjesom otapala pentan:dietil-eter, 1:2 v/v (ekstrakcija tekuće-tekuće)
- **uzorak 2** - Traminac, ledena berba 2007, dobiven ekstrakcijom smjesom otapala pentan:dietil-eter, 1:2 v/v (ekstrakcija tekuće-tekuće)
- **uzorak 3** - Traminac, kasna berba 2012, dobiven ekstrakcijom smjesom otapala pentan:dietil-eter, 1:2 v/v (ekstrakcija tekuće-tekuće)
- **uzorak 4** - Traminac, kvalitetno vino 2016, dobiven ekstrakcijom diklormetanom (ekstrakcija tekuće-tekuće)
- **uzorak 5** - Traminac, ledena berba 2007, dobiven ekstrakcijom diklormetanom (ekstrakcija tekuće-tekuće)
- **uzorak 6** - Traminac kasna berba 2012, dobiven ekstrakcijom diklormetanom (ekstrakcija tekuće-tekuće)

Svi uzorci su analizirani vezanim sustavom plinska kromatografija-spektrometrija masa (GC-MS). Rezultati analiza su prikazani u tablicama 1-6. Spojevi u tablicama su poredani prema redoslijedu eluiranja (retencijsko vrijeme) sa kolone HP-5MS. Maseni udio svakog spoja u uzorku (u %) predstavlja udio površine pika toga spoja u ukupnoj površini svih pikova.

### 3.1. GC-MS ANALIZA HLAPLJIVIH SPOJEVA

Značenje simbola u tablicama:

$R_t$  - retencijsko vrijeme, vrijeme između injektiranja uzorka i pojave signala na detektoru

HMF- hidroksimetilfurfural

**Tablica 1.** Kemijski sastav i udio hlapljivih spojeva u uzorku 1

Redni broj	Spoj	Udio (%)	R <sub>t</sub>
1.	propanska kiselina	0,2	3,238
2.	butan-1-ol	0,8	3,561
3.	izoamil-acetat	2,1	3,683
4.	propan-2-ol	9,1	3,793
5.	benzaldehyd	0,2	5,501
6.	3-metiltiopropan-1-ol	0,5	5,930
7.	heksanska kiselina	4,5	6,114
8.	etil-heksanoat	0,9	6,434
9.	benzil-alkohol	0,2	7,580
10.	fenilacetaldehyd	0,3	7,857
11.	etil-4-hidroksibutanoat	1,0	8,193
12.	linalool	0,1	9,805
13.	2-feniletanol	16,00	10,343
14.	dietil-sukcinat	5,2	12,994
15.	etil-hidrogen-sukcinat	26,3	13,229
16.	kaprilna kiselina	1,5	13,451
17.	etil-oktanoat (etil-kaprilat)	2,2	13,600
18.	heksil-izobutirat	0,4	17,589
19.	izoamil-butirat	2,4	17,700
20.	dekanska kiselina	2,6	21,074
21.	etil-dekanoat	0,7	21,868
22.	4-hidroksibenzenetanol	6,6	23,368
23.	1-fenil-etan-1,2-diol	0,9	23,629
24.	triptofan	0,7	35,650
25.	heksadekan-1-ol	0,5	39,862
26.	(Z)-oktadec-9-en-1-ol	1,5	45,519
Ukupno identificirano (%)		91,2	



**Tablica 2.** Kemijski sastav i udio hlapljivih spojeva u uzorku 2

Redni broj	Spoj	Udio (%)	R <sub>t</sub>
1.	2-metilbutanska kiselina	0,1	3,264
2.	heksil-format	0,4	3,552
3.	propan-2-ol	0,6	3,793
4.	$\gamma$ -butirolakton (GBL)	0,1	4,401
5.	etil-3-hidroksibutirat	0,1	4,805
6.	benzaldehyd	0,5	5,501
7.	3-metiltioprop-1-ol	0,1	5,930
8.	heksanska kiselina	0,4	6,114
9.	etil-heksanoat	0,2	6,434
10.	benzil-alkohol	0,2	7,580
11.	etil-4-hidroksibutanoat	0,2	8,193
12.	linalool-oksid	0,2	8,850
13.	( <i>E,E</i> )-heksa-2,4-dienska kiselina	5,5	9,480
14.	etil-sorbat	2,9	9,736
15.	2-feniletanol	21,7	10,343
16.	dietil-sukcinat	9,8	12,994
17.	etil-hidrogen-sukcinat	24,0	13,229
18.	HMF	3,1	15,141
19.	4-hidroksibenzenetanol	1,4	23,368
20.	heksadekan-1-ol	0,1	39,862
21.	( <i>Z</i> )-oktadec-9-en-1-ol	1,5	45,519
Ukupno identificirano(%)		73,1	

**Tablica 3.** Kemijski sastav i udio hlapljivih spojeva u uzorku 3

Redni broj	Spoj	Udio (%)	R <sub>t</sub>
1.	2-furfural	0,1	3,109
2.	propanska kiselina	0,1	3,238
3.	butan-1-ol	0,5	3,561
4.	1,4-dimetilbenzen	0,4	3,656
5.	propan-2-ol	1,5	3,793
6.	benzaldehyd	0,4	5,501
7.	heksanska kiselina	1,8	6,114
8.	etil-heksanoat	0,6	6,434
9.	benzil-alkohol	0,1	7,580
10.	fenilacetaldehyd	0,5	7,857
11.	linalool-oksid	0,1	8,850
12.	( <i>E,E</i> )-heksa-2,4-dienska kiselina	26,9	9,480
13.	2-feniletanol	11,4	10,343
14.	dietil-sukcinat	7,8	12,994
15.	kaprilna kiselina	2,0	13,173
16.	etil-hidrogen-sukcinat	27,4	13,229
17.	dekanska kiselina	0,5	21,074
18.	etil-dekanoat	0,2	21,868
19.	4-hidroksibenzenetanol	3,3	23,368
20.	1H-indol-3-etanol	0,2	36,079
21.	heksadekan-1-ol	0,9	39,862
22.	heksadekanska kiselina	0,1	42,684
23.	( <i>Z</i> )-oktadec-9-en-1-ol	4,0	45,519
24.	oktadekan-1-ol	1,2	46,499
Ukupno identificirano (%)		92,0	

**Tablica 4.** Kemijski sastavi udio hlapljivih spojeva u uzorku 4

Redni broj	Spoj	Udio (%)	R <sub>t</sub>
1.	izoamil-acetat	0,1	3,683
2.	$\gamma$ -butirolakton (GBL)	0,2	4,401
3.	heksanska kiselina	2,5	6,114
4.	limonen	0,2	7,379
5.	fenilacetaldehid	0,4	7,857
6.	ocimen	0,3	7,962
7.	etil-4-hidroksibutanoat	0,7	8,193
8.	2-feniletanol	10,5	10,343
9.	dietil-sukcinat	2,4	12,994
10.	kaprilna kiselina	1,8	13,173
11.	etil-hidrogen-sukcinat	24,9	13,229
12.	2,4-dihidrobenzofuran	1,8	14,935
13.	geraniol	0,2	16,097
14.	jabučna kiselina	1,3	18,193
15.	geranijska kiselina	1,1	20,627
16.	dekanska kiselina	5,0	21,074
17.	4-hidroksibenzenetanol	6,0	23,368
18.	etil-4-hidroksi-3-metoksibenzoat	0,2	29,486
19.	1H-indol-3-etanol	0,1	36,079
20.	(E)-etil 3-(4-hidroksifenil)propanoat	2,5	38,269
21.	4-hidroksicinamična kiselina	1,5	38,667
22.	3-hidroksi-4-metoksicinamična kiselina	0,5	40,070
23.	heksadekanska kiselina	0,8	42,684
24.	(Z)-oktadec-9-en-1-ol	1,6	45,519
25.	oktadekan-1-ol	0,6	46,499

Ukupno identificirano (%)	93,9
---------------------------	------

**Tablica 5.** Kemijski sastav i udio hlapljivih spojeva u uzorku 5

Redni broj	Spoj	Udio(%)	R <sub>t</sub>
1.	$\gamma$ -butirolakton (GBL)	0,2	4,401
2.	heksanska kiselina	0,2	6,114
3.	etil-4-hidroksibutanoat	0,3	8,193
4.	linalool-oksid	0,1	8,850
5.	2,5-furandikarboksaldehid	0,4	9,009
6.	( <i>E,E</i> )-heksa-2,4-dienska kiselina	7,0	9,480
7.	2-feniletanol	5,6	10,343
8.	dietil-sukcinat	2,2	12,994
9.	etil-hidrogen-sukcinat	28,6	13,229
10.	2,3-dihidrobenzofuran	0,5	14,935
11.	HMF	8,6	15,141
12.	dietil-malat	3,4	16,582
13.	sukcinska kiselina	0,1	17,309
14.	jabučna kiselina	2,8	18,193
15.	geranijska kiselina	0,1	20,627
16.	4-hidroksibenzenetanol	2,2	23,368
17.	4-hidroksicinamična kiselina	0,4	38,667
18.	heksadekanska kiselina	1,0	42,684
19.	( <i>Z</i> )-oktadec-9-en-1-ol	2,2	45,519
Ukupno identificirano (%)		65,9	

**Tablica 6.** Kemijski sastav i udio hlapljivih spojeva u uzorku 6

Redni broj	Spoj	Udio (%)	R <sub>t</sub>
1.	mliječna kiselina	2,2	4,282
2.	heksanska kiselina	0,4	6,114
3.	pantolakton	0,1	7,702
4.	fenilacetaldehid	0,1	7,857
5.	etil-4-hidroksibutanoat	0,3	8,193
6.	linalool-oksid	0,1	8,850
7.	( <i>E,E</i> )-heksa-2,4-dienska kiselina	9,4	9,480
8.	2-feniletanol	8,5	10,343
9.	dietil-sukcinat	1,9	12,994
10.	etil-hidrogen-sukcinat	29,8	13,229
11.	2,3-dihidrotiofen	0,3	14,709
12.	2,3-dihidrobenzofuran	1,2	14,935
13.	HMF	1,0	15,141
14.	dietil-malat	1,2	16,582
15.	sukcinska kiselina	0,3	17,309
16.	geranska kiselina	0,2	20,627
17.	etil-dekanoat	0,2	21,868
18.	4-hidroksibenzenetanol	3,1	23,329
19.	etil-4-hidroksi-3-metoksibenzoat	0,8	29,486
20.	4-hidroksicinamična kiselina	0,4	38,667
21.	heksadekanska kiselina	1,3	42,684
Ukupno identificirano (%)		62,8	

## **4. RASPRAVA**

Cilj ovog rada bio je istražiti aromatični profil različitih uzoraka vina Traminac te usporediti dobiveni kemijski sastav i udio identificiranih hlapljivih spojeva u svakom pojedinom uzorku vina. Za dobivanje aromatičnog profila korištena je metoda ekstrakcija tekuće-tekuće sa dva različita otapala: diklormetan i smjesa otapala (pentan:dietil-eter, 1:2 v/v). Svi dobiveni uzorci hlapljivih spojeva analizirani su vezanim sustavom plinska kromatografija-spektometrija masa, a rezultati analiza su prikazani u tablicama 1-6.

#### Ekstrakcija tekuće-tekuće sa smjesom otapala (pentan:dietil-eter, 1:2 v/v)

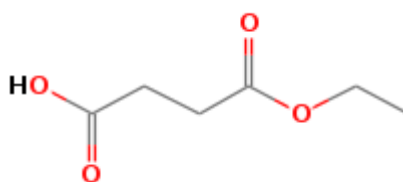
U uzorku 1, kvalitetno vino Traminac berbe 2016, ukupno je identificirano 27 hlapljivih spojeva koji čine 91,2% od ukupne površine kromatograma. Glavni hlapljivi spoj u uzorku je etil-hidrogen-sukcinat (26,3%), a kvantitativno značajni sastojci su 2-feniletanol (16,0%), propan-2-ol (9,1%), 4-hidroksibenzenetanol (6,6%), dietil-sukcinat (5,2%) i heksanska kiselina (4,5%).

U uzorku 2, vrhunsko predikatno vino Traminac, ledene berbe 2007, ukupno je identificiran 21 hlapljivi spoj koji čini 73,1% ukupne površine kromatograma. Glavni hlapljivi spoj u uzorku je etil-hidrogen-sukcinat (24,0%), a kvantitativno značajni sastojci su 2-feniletanol (21,7%), dietil-sukcinat (9,8%), (*E,E*)-heksa-2,4-dienska kiselina (5,5%) i hidroksimetilfurfural (3,1%).

U uzorku 3, vrhunsko predikatno vino Traminac, kasne berbe 2012, ukupno je identificirano 24 spoja koji čine 92% ukupne površine kromatograma. Glavni hlapljivi spojevi su etil-hidrogen-sukcinat (27,4%) i (*E,E*)-heksa-2,4-dienska kiselina (26,9%). Kvantitativno značajni sastojci su 2-feniletanol (11,4%), dietil-sukcinat (7,8%), (*Z*)-oktadec-9-en-1-ol (4,0%) i 4-hidroksibenzenetanol (3,3%). Glavni hlapljivi spoj u sva tri uzorka je etil-hidrogen-sukcinat, ester sukcininske kiseline (butandionska kiselina).

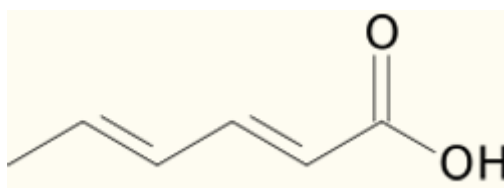
Smatra se da najveći dio etilnih estera masnih kiselina nastaje enzimskim reakcijama esterifikacije aktivirane masne kiseline nastale tijekom početnog stupnja biosinteze lipida, ali njihovo nastajanje još nije u potpunosti objašnjeno. Najvažniji faktori koji utječu na nastajanje estera su sadržaj šećera, kisika, lipida, raspoloživog dušika i temperatura fermentacije. Veći udio estera se stvara kada je povećana količina aminokiselina u moštu, a aminokiseline arginin, glutamat i glutamin su glavnih prekursori estera. Esteri su vrlo hlapljivi spojevi te njihove koncentracije s vremenom opadaju, a povišena temperatura i oksidativni procesi taj proces još više ubrzavaju.

Čuvanje vina na prikladnim temperaturama jedan je od preduvjeta za očuvanje finih, voćno-cvjetnih aroma.<sup>26</sup> Od identificiranih estera u uzorcima 1, 2 i 3, prisutni su najviše etilni ester srednje dugog ugljikovodičnog lanca nezasićenih masnih kiselina, ali njihov udio je mali i razlikuje se od uzorka do uzorka. U uzorku 1 pronađeni su etil-kaprilat (2,2%), etil-dekanoat (0,7%), etil-4-hidroksibutanoat (1,0%), izoamil-butirat (2,4%), heksil-izobutirat (0,4%), etil-heksanoat (0,9%), a jedini acetatni ester je bio izoamil-acetat (2,1%). U uzorku 2 udio ostalih etilnih estera nije veliki, a najzastupljeniji je bio etil-sorbat (2,9 %).



**Slika 15.** Kemijska struktura etil-hidrogen-sukcinata<sup>35</sup>

(*E,E*)-Heksa-2,4-dienska kiselina je nezasićena masna kiselina kratkog lanca, trivijalnog naziva sorbinska kiselina. Sorbinska kiselina je prirodni spoj koji se koristi kao konzervans u prehrambenoj industriji u svrhu sprječavanja rasta gljivica, plijesni i kvasaca. U vinima se dodaje u obliku kalijevog sorbata koji je bolje topljiv. Glavna funkcija sorbinske kiseline je preventirati neželjeni rast kvasaca u vinu, a da pri tom ne ometa aktivnost bakterija. Najviše se koristi kod bijelih slatkih vina koja su sklona kvarenju kako bi se spriječilo sekundarno vrenje.<sup>36</sup> Udio sorbinske kiseline u uzorku 3 je izrazito visok i spada među kvantitativno glavne identificirane hlapljive spojeve dok je kod uzorka 2, njen udio je znatno manji, a u uzorku 1 nije identificirana.

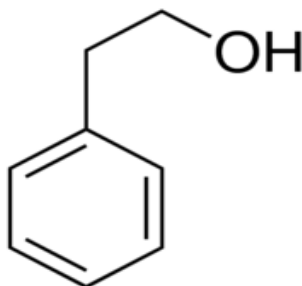


**Slika 16.** Kemijska struktura (*E,E*)-heksa-2,4-dijske kiseline<sup>37</sup>

Kod sva tri uzorka, udio aromatskog alkohola 2-feniletanola je visok, a najviše je izražen kod uzorka 2. 2-Feniletanol uglavnom nastaje iz odgovarajuće aminokiseline fenilalanina tijekom alkoholne fermentacije, ali dio 2-feniletanola je prisutan i u grožđu u vezanom obliku. Mogućnost koncentriranja prekursora 2-feniletanola (aminokiseline), i njegovo oslobađanje tijekom fermentacije ne treba odbaciti kao uzrok visokih



koncentracija u ledenim vinima, kao i zasluge za medne note u slatkim vinima. Alkohol ima veliki utjecaj na okus i aromu. Zrelije grožđe sadržava više prirodnog šećera i samim time sadrži i veće količine alkohola. Vina s većim udjelom alkohola su punija, harmoničnija i gušća.<sup>38</sup>

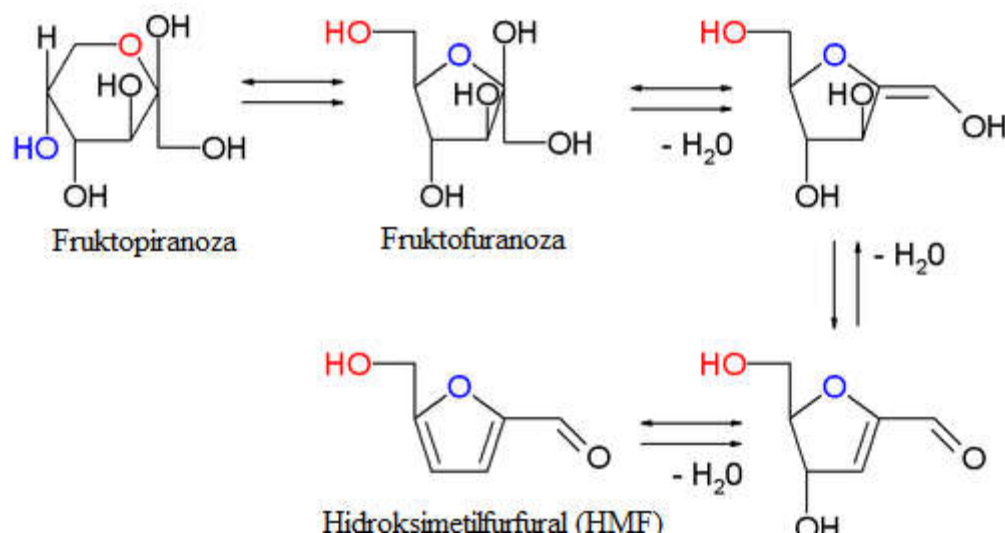


**Slika 17.** Kemijska struktura 2-feniletanola<sup>39</sup>

Dietil-sukcinat vinima daje lagani voćni miris. Smatra se da ovaj ester nastaje malolaktičnom fermentacijom ili esterifikacijom tijekom dozrijevanja vina. Prema podacima iz literature smatra se da vrijeme maceracije bitno utječe na količinu estera u vinu, duže vrijeme maceracije može smanjiti količine estera.<sup>40</sup>

Sadržaj propan-2-ola je visok kod uzorka 1, a dosta nizak kod uzoraka 2 i 3. Propan-2-ol i ostali viši alkoholi su proizvod alkoholnog vrenja, tj. djelovanja mikroorganizama. Ovi alkoholi imaju opijajuće djelovanje za ljudski organizam jer ljudi ne raspolažu s enzimima za njihovu razgradnju, već se oni sporo razgrađuju u jetri sa specifičnim enzimima. Ovi alkoholi su najodgovorniji za glavobolju.<sup>41</sup>

Mali udio (3,1%) hidroksimetilfurfurala (HMF) je prisutan kod uzorka 2 što je posljedica Maillardovih reakcija usljed starenja vina. Hidroksimetilfurfural organska je molekula koja nastaje dehidracijom određenih šećera. U grožđu i slatkom vinu, HMF može potjecati od prisutne fruktoze koja čini oko polovicu šećera u grožđu. Ni grožđe ni vino nisu jako kiseli, pH je 3-4, ali sadrže dovoljnu količinu kiseline koja favorizira stvaranja HMF-a pri odgovarajućim temperaturnim uvjetima. Neophodni uvjeti koji mogu dovesti do njegove prisutnosti u vinu su korištenje sušenog grožđa, grijanje mošta ili vina te dugotrajno starenje u toplim uvjetima. Shematski prikaz nastajanja HMF-a dehidracijom prikazan je na slici 18.<sup>42</sup>



**Slika 18.** Prikaz nastajanja HMF-a <sup>43</sup>

Iz izomernih oblika fruktoze, fruktopiranoze i fruktofuranoze, procesom dehidratacije u 2 koraka nastaje hidroksimetilfurfural (HMF). <sup>43</sup>

#### Ekstrakcija tekuće-tekuće sa diklormetanom

U uzorku 4, kvalitetno vino Traminac berbe 2016, ukupno je identificirano 25 hlapljivih spojeva koji čine 93,9% ukupne površine kromatograma. Glavni hlapljivi spojevi identificirani u uzorku 4 su etil-hidrogen-sukcinat (24,9%), 2-feniletanol (10,5%), 4-hidroksibenzenetanol (6,0%) i dekanska kiselina (5,0%).

U uzorku 5, vrhunsko vino Traminac, ledena berba 2007, ukupno je identificirano 19 hlapljivih spojeva koji čine 65,9% ukupne površine kromatograma. Glavni identificirani hlapljivi spojevi u uzorku 5 su etil-hidrogen-sukcinat (28,6%), HMF (8,6%), (*E,E*)-heksa-2,4-dienska kiselina (7,0%) i 2-feniletanol (5,6%).

U uzorku 6, vrhunsko vino Traminac, kasna berba 2012, ukupno je identificiran 21 hlapljivi spoj koji čini 62,8% ukupne površine kromatograma. Glavni identificirani hlapljivi spojevi su etil-hidrogen-sukcinat (29,8%), (*E,E*)-heksa-2,4-dienska kiselina (9,4%), 2-feniletanol (8,5%) i 4-hidroksibenzenetanol (3,1%).

Kod sva tri uzorka najveći udio čini etil-hidrogen-sukcinat. Sadržaj etil-hidrogen-sukcinata je za nijansu veći kod ekstrakcije sa diklormetanom nego sa smjesom otapala, pentan:dietil-eter (vjerojatno zbog razlike u polarosti korištenih otapala).

Vrijednosti postotaka drugih identificiranih hlapljivih spojeva se također razlikuju među ekstraktima s različitim otapalima. Dekanska kiselina identificirana je jedino kod uzorka 4 i čini 5,0% od ukupnog uzorka. Ona nema veliki utjecaj na aromu vina, ali ima važnu ulogu u složenosti sastava arome. Kod sva tri uzorka dobivena ekstrakcijom diklormetanom identificiran je manji udio 2-feniletanola i dietil-sukcinata nego kod ekstrakcije sa smjesom otapala. Mali udio jabučne kiseline u uzorcima 4 i 5 ukazuje da nije došlo do malolaktične fermentacije, dok kod uzorka 6 postoji neznatni udio mliječne kiseline što je posljedica malolaktične fermentacije. Sadržaj HMF-a je veći kod ekstrakcije diklormetanom vjerojatno zbog veće polarosti. (*E,E*)-Heksa-2,4-dienska kiselina identificirana je samo kod uzorka 5 i 6, a u odnosu na uzorak 3 ima dosta niži udio.

U usporedbi s radom u kojem je korištena HS-SPME metoda izolacije hlapljivih spojeva vina Traminac (I. Lukić, S. Radeka, N. Grozaj, M. Staver i D. Peršurić, 2015.) rezultati su razlikuju. <sup>38</sup> Ekstrakcija tekuće-tekuće kao metoda izolacije pokazala se kao prikladna za identifikaciju i kvantifikaciju spojeva koji su zaslužni za sekundarnu aromu vina, a to su esteri, kiseline i alkoholi, dok je HS-SPME bolja za izolaciju spojeva primarne arome. Primjenom HS-SPME identificirani su terpenski alkoholi, rose-oksidi (ružin-oksidi) i  $\beta$ -damascenon, koji u ovom radu gotovo da nisu identificirani.

## **5. ZAKLJUČAK**

- Postavljeni cilj ovog istraživanja (određivanje aromatičnog profila različitih uzoraka vina Traminac i usporedba kemijskog sastava i udjela identificiranih hlapljivih organskih spojeva u pojedinom uzorku) je ostvaren.
- Odabrana metoda izolacije hlapljivih spojeva vina Traminac, ekstrakcija tekuće-tekuće s dva različita otapala (diklormetan i smjesa otapala, pentan:dietil-eter, 2:1 v/v), pokazala se prikladna. Analizom ekstrakata vezanim sustavom plinska kromatografija-masena spektrometrija, (GC-MS) ukupno je identificirano 55 različitih hlapljivih spojeva koji pridonose karakterističnoj aromi vina Traminac.
- Kod svih 6 uzoraka, neovisno o korištenom otapalu, kvantitativno najzastupljeniji spoj je ester etil-hidrogen-sukcinat. Osim ovog estera kvantitativno važni su i sljedeći hlapljivi spojevi: 2-feniletanol, dietil-sukcinat, HMF, (*E,E*)-heksa-2,4-dienska kiselina, propan-2-ol i dr.
- Ekstrakcija tekuće-tekuće je pogodna metoda za izolaciju hlapljivih organskih spojeva sekundarne arome vina Traminac. Najveći postotak u ekstraktima čine etilni esteri masnih kiselina, viši alkoholi i nezasićene masne kiseline srednjeg ugljikovodičnog lanca. Spojevi primarne arome se ovom metodom teže identificiraju, a među njima su terpeniski alkoholi geraniol i linalool identificirani sa malim postotkom kod kvalitetnog vina Traminac, berba 2016.
- Za detaljni aromatski profil vina potrebno je nastaviti istraživanja koristeći različite metode izolacije hlapljivih organskih spojeva kako bi se dobio potpuni kemijski profil primarne i sekundarne arome vina.

## **6. LITERATURA**

1. <http://www.tzkz.hr/hr/gdje-jesti/lokalni-proizvodi/prica-o-vinu/>
2. <http://www.akademijavina.hr/>
3. Joanna Simon, *Velika knjiga o vinu*, Profil, Zagreb, 2004.
4. Zakon o vinu, Narodne novine, broj 96/2003
5. <https://hr.wikipedia.org/wiki/Vino>
6. <http://www.vinogradarstvo.com/home/kultura-pijenja-vina/212-podjela-vina>
7. <http://www.agroportal.hr/vinogradarstvo/26792>
8. <http://blog.vino.hr/>
9. N. Mirošević, J. Karoglan Kontić, V. Milat, S. Herjavec, M. Fazinić, Đ. Peršurić, Lj. Gašparec-Skočić, J. Bolić, M. Ričković, *Hrvatska vina i vinari*, Agmar, Zagreb, 2002.
10. <http://www.dobartek.spar.hr/hr/vino-i-hrana/traminac,79.html>
11. N. Mirošević, Z. Turković, *Ampelografski atlas*, Golden marketing, Tehnička knjiga, Zagreb, 2003.
12. I. Sokolić, *Prvi hrvatski vinogradarsko vinarski leksikon*, Vitagraf, Novi Vinodolski, 1998.
13. N. Mirošević, J. Karoglan Kontić, *Vinogradarstvo*, Nakladni zavod Globus, Zagreb, 2008.
14. [http://vinopedia.hr/wiki/index.php?title=traminac\\_crveni](http://vinopedia.hr/wiki/index.php?title=traminac_crveni)
15. <https://www.agroklub.com/pretraga/traminac-mirisavi/52689/>
16. I. Alpeza, *Temelji kemijskog sastava vina*, Glasnik zaštite bilja 6/2008
17. Karen MacNeil, *The Wine Bible*, Workman Publishing Company, New York, 2001.

18. P. Ribereau Gayon, Y. Glories, A. Maujean, D. Dudourdieu, *Handbook of enology – the chemistry of wine stabilization and treatments*, second edition, John Wiley and sons, Chichester, West Sussex, England, 2006.
19. M. Zoričić, *Crna i ružičasta vina*, Gospodarski list d.o.o., Zagreb, 1998.
20. M. Victoria Moreno-Arribas, M. Carmen Polo, *Wine Chemistry and Biochemistry*, Springer, Science+Business Media, LLC, 2009
21. <https://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/tehnologija-proizvodnje-vina>
22. Jens Priewe, *Vinska škola*, GZH, Zagreb, 2005.
23. I. Jerković, *Kemija aroma*, recenzirana skripta za internu upotrebu, Kemijsko-tehnološki fakultet, Split, 2011.
24. [https://www.veleri.hr/files/datotekep/nastavni\\_materijali/k\\_vinarstvo\\_2/Vinarstvo%20III%20-novo.pdf](https://www.veleri.hr/files/datotekep/nastavni_materijali/k_vinarstvo_2/Vinarstvo%20III%20-novo.pdf)
25. L. Joukhadar, *Analiza arome bijelog vina proizvedenog primjenom različitih tehnologija*, Završni rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb, 2016.
26. M. Matošević, *Aroma vina*, Završni rad, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2015.
27. R. Flamini, P. Traldi, *Mass Spectrometry in Grape and Wine Chemistry*, John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, 2010.
28. [https://sh.wikipedia.org/wiki/Etil\\_laktat](https://sh.wikipedia.org/wiki/Etil_laktat)
29. <https://bs.wikipedia.org/wiki/Etil-acetat>
30. I. Jerković, A. Radonić, *Praktikum iz organske kemije*, Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu, Split, 2009.
31. Bao Jiang, Zhenwen Zhang, *Volatile Compounds of Young Wines from Cabernet Sauvignon, Cabernet Gernischet and Chardonnay Varieties Grown in the Loess Plateau Region of China*, *Molecules*, 2010, 15, 9184-9196.



32. S. Keene, *Solid Phase Microextraction (SPME)*, 2009.
33. Igor Jerković, Ivica Blažević, *Eterična ulja i mirisni ekstrakti aromatičnog bilja, nerecenzirana skripta za internu upotrebu*, Kemijsko tehnološki fakultet, Split, 2010.
34. <http://www.ilocki-podrumi.hr/>
35. <https://www.chemeo.com/Ethyl/hydrogen/succinate>
36. Ian S. Hornsey, *The Chemistry and Biology of Winemaking*, RSC, UK, 2007
37. <http://www.lamba.hr/en/proizvodi/prehrambene-kiseline/sorbinska-kiselina/>
38. I. Lukić, S. Radeka, N. Grozaj, M. Staver, Đ. Peršurić, *Changes in physico-chemical and volatile compound composition of Gewürztraminer wine as a result of late and ice harvest*, Food Chemistry, 196 (2016), 1048-1057.
39. <https://bs.wikipedia.org/wiki/Fenetil-alkohol>
40. V. Ivanova Petropulos, E. Bogeve, T. Stafilov, M. Stefova, B. Siegmund, N. Pabi, E. Lankmayr, *Study of influence of maceration time and oenological practices on the aroma profile of Vranec wines*, Food Chemistry, 165 (2014), 506-514
41. <http://casopisvino.co.rs/vino-i-zdravlje/glavobolja-posle-case-vina/>
42. A. Amerine Maynard, *Hydroxymethylfurfural in California Wines*, Food science, 1947.
43. <https://en.wikipedia.org/wiki/Hydroxymethylfurfural>